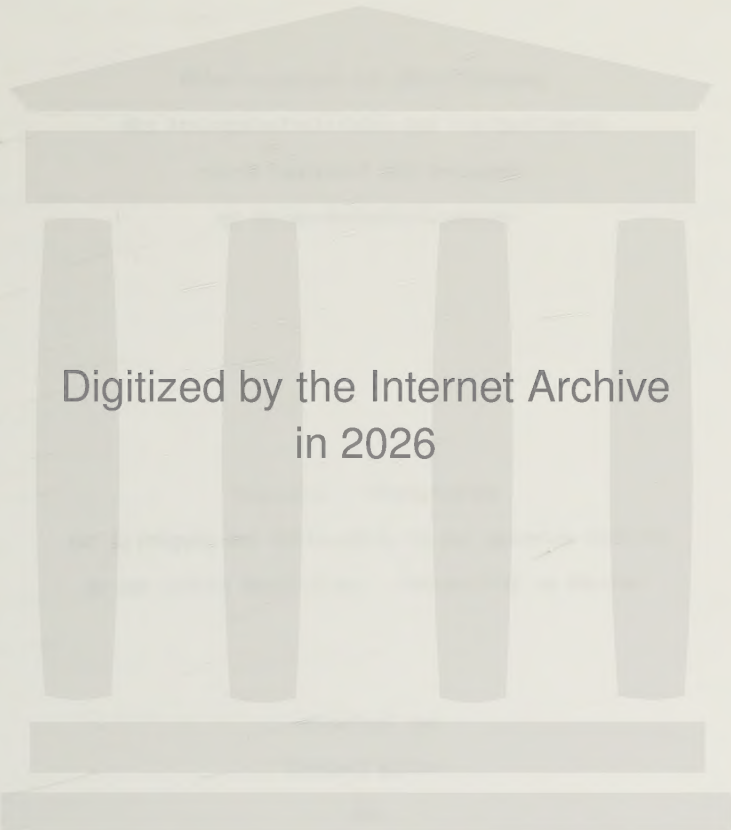


UNTERSUCHUNGEN ZUR BEEINFLUSSUNG
DES ATMUNGSKONTROLLINDEX UND P/O-QUOTIENTEN
DURCH FENOTEROL UND VERAPAMIL
AN HERZMUSKELMITOCHONDRIEN

Gerhard Reiner

*Duss
München
1984*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554007_0015

Aus der Frauenklinik der Universität München
im Klinikum Großhadern
Direktor: Prof. Dr. H. Hepp

Untersuchungen zur Beeinflussung
des Atmungskontrollindex und P/O-Quotienten
durch Fenoterol und Verapamil
an Herzmuskelmitochondrien

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
Gerhard Reiner

aus
München

1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter :	PD Dr. W. Eiermann
Mitberichterstatter :	Prof. Dr. H. Hepp
Dekan :	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung :	27.11.1984

INHALTSÜBERSICHT

<u>1</u>	<u>Einführung</u>	<u>4</u>
1.1	Problematik und Therapie der drohenden Frühgeburt	4
1.2	Betasymphathomimetica	5
1.3	Calciumantagonisten	14
1.4	Herzmuskelmitochondrien	15
1.5	Ziel der Arbeit	21
<u>2</u>	<u>Methodik</u>	<u>23</u>
2.1	Versuchsansätze	23
2.2	Entnahme des Herzgewebes	25
2.3	Isolation der Mitochondrien	25
2.4	Messung der mitochondrialen Atmungsrate	28
2.5	Auswertung	38
<u>3</u>	<u>Ergebnisse</u>	<u>42</u>
3.1	Inkubation der Mitochondrien	43
3.2	Inkubation des Herzgewebes	67
<u>4</u>	<u>Diskussion</u>	<u>95</u>
<u>5</u>	<u>Zusammenfassung</u>	<u>102</u>
<u>6</u>	<u>Literatur</u>	<u>104</u>

1.1 Problematik und Therapie der drohenden FrühgeburtFrühgeborenenproblematik

Die Sterblichkeit der Frühgeburt hat trotz des erheblichen Fortschrittes der Neonatologie in den letzten Jahren mit etwa 65% (30) einen hohen Anteil an der gesamten perinatalen Sterblichkeit. Auch die Morbiditätsrate, insbesondere das Auftreten neurologischer Spätschäden, ist deutlich erhöht. Abgesehen von den Fällen, in denen eine Frühgeburt zum Beispiel wegen pränataler Erkrankungen oder bestimmter Formen der Placentainsuffizienz zweckmäßig erscheint, bildet die Prävention der Prätermaturität eine der wichtigsten Aufgaben der Geburtshilfe und Perinatologie.

Therapiemöglichkeiten

Mannigfaltige Faktoren führen über die Zervixinsuffizienz, die bereits oben erwähnte uteroplacentare Insuffizienz oder eine erhöhte uterine Übererregbarkeit und die daraus resultierende vorzeitige Wehentätigkeit zur Auslösung einer Frühgeburt (24). Als entsprechendes therapeutisches Verfahren bietet sich neben konsequenter Bettruhe und der Zervixumschlingung die medikamentöse Wehenhemmung mit Betasympathomimetica und Prostaglandin-antagonisten an. Der Einsatz von Spasmolytica, Sedativa und Alkohol zur Tokolyse erwies sich aus verschiedenen Gründen als nicht besonders zweckmäßig (49). Die Anwendung von Prostaglandinsynthesehemmern hat gezeigt, daß diese nur in Kombination mit Betasympathomimetica zu deren Dosisreduktion sinnvoll ist, und außerdem in Fällen ausgeprägter zervixwirksamer Wehen oder bei gesichertem Blasensprung eine intravenöse Tokolyse mit Betamimetica allein eingeleitet werden sollte (59). Daraus ergibt sich die Bedeutung der Betasympathomimetica bei den Bemühungen, eine vorzeitige

Wehentätigkeit hinauszuzögern, beziehungsweise zu verhindern.

1.2 Betasympathomimetica

Rezeptorenkonzept

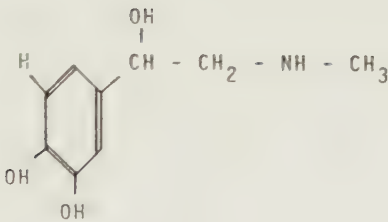
Der Einsatz von Betamimetica in der Geburtshilfe basiert unter anderem auf Beobachtungen von FEGERL et al. vor ungefähr 30 Jahren (7), die eine Beeinflussung der Kontraktionsfähigkeit des Uterus durch Adrenalin im Sinne einer Tonusverminderung beschrieben. Das Konzept von AHLQUIST (1) in Erweiterung durch LANDS et al. (22) ermöglicht dabei das Verständnis dieser Wirkung: Von den adrenergen Rezeptoren kennen wir im Organismus Alpha- und Betarezeptoren, letztere mit zwei Untergruppen, "Beta 1" und "Beta 2". Während über Alpharezeptoren vorwiegend eine Konstriktion, beziehungsweise Kontraktion des jeweiligen Erfolgsorgans bewirkt wird, ergibt eine Beeinflussung von Betarezeptoren umgekehrt im allgemeinen eine Dilatation, beziehungsweise Relaxation. Es ist gelungen, rezeptorspezifische Pharmaka zu entwickeln, wobei sich deren Einsatz nach dem Verteilungsmuster der Rezeptoren in den einzelnen Geweben zu orientieren hat: So finden sich überwiegend Beta-1-Rezeptoren zum Beispiel am Herzen, während besonders Beta-2-Rezeptoren unter anderem an Gefäßen von Muskulatur und Leber, an der Bronchialmuskulatur und am Uterus nachzuweisen sind.

Wirkungsmechanismus von Fenoterol

Als das am häufigsten im deutschen Sprachraum angewandte Medikament zur Einwirkung auf die Beta-2-Rezeptoren des Uterus gilt derzeit Fenoterol (Partusisten^R der Firma Boehringer, Ingelheim). Da die vorliegende Untersuchung eine Nebenwirkung dieses Tokolyticums prüft, wird im folgenden an ihm stellvertretend für alle anderen Betasympathomimetica dessen Wirkungsmechanismus erläutert, soweit dieser heute bekannt ist. Die Wirkung von Fenoterol ergibt sich über eine Vermittlung des in der Membran der

Muskelzelle lokalisierten Beta-2-Rezeptors. Entscheidend für die relative Rezeptorspezifität der Wirksubstanz und deren Effektivität ist dabei die vom Adrenalin als physiologischer Transmittersubstanz abgeleitete chemische Struktur (Abb. 1). Über eine Aktivierung der Adenylatcyclase und einer daraus resultierenden Umwandlung von ATP erfolgt darauf in der Zelle ein Anstieg des Cyclo-AMP ("cAMP", 11). Die Wirkungen des cAMP als "second messenger" auf die Aktivität einer Muskelzelle sind vielfältig (38): Allgemein bewirkt es über die Aktivierung, beziehungsweise Hemmung von Proteinkinasen Veränderungen im intrazellulären Metabolismus. Neben daraus resultierenden Konzentrationsänderungen verschiedener Stoffwechselprodukte ergeben sich auch geänderte Permeabilitätsverhältnisse der Zellmembran. So wird durch eine cAMP-abhängige Proteinkinase die Phosphorylierung der Myosinkinase ermöglicht, wodurch diese in der weniger aktiven Form vorliegt. Dadurch ist eine für die Interaktion von Aktin- und Myosinfilamenten notwendige Phosphorylierung der "leichten" Myosinkette nicht möglich, und es kommt zu einer direkten muskelrelaxierenden Wirkung. Weiter läßt sich demonstrieren, daß nach Vorbehandlung mit Tokolytica Calcium-Ionen in den Mitochondrien kumulieren. Grund dafür ist, daß cAMP auch einen Effekt auf eine in der Zellmembran lokalisierte Calcium-abhängige ATPase ausübt, der eine wesentliche Bedeutung beim aktiven Transport von Calcium-Ionen aus der Zelle zukommt. Eine adäquate Calcium-Konzentration ist nicht nur im Zusammenhang mit der oben erwähnten Phosphorylierung des Myosin erforderlich, sondern für elektrophysiologische und weitere lebensnotwendige Vorgänge in der Zelle, wie an den weiter unten dargestellten kardialen Nebenwirkungen von Fenoterol und den in Abschnitt 1.4 erläuterten Wirkungen auf den mitochondrialen Stoffwechsel deutlich wird. Zusätzlich können aber noch weitere Faktoren von Bedeutung sein, wie zum Bei-

Adrenalin:



Fenoterol:

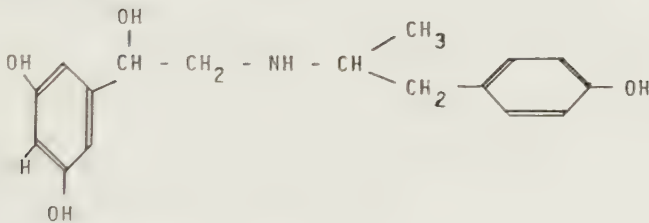


Abb. 1

Strukturformeln : Adrenalin, Fenoterol

Wesentlichen Einfluß auf eine maximale Stimulierung des Betarezeptors gegenüber Adrenalin hat die ausgedehnte Substitution der Aminogruppe. Von Bedeutung für einen relaxierenden Effekt auf die Uterusmuskulatur sind die Phenolgruppe und die sekundäre alkoholische Hydroxylgruppe. Im Adrenalin befinden sich die beiden phenolischen Hydroxylgruppen in para- und meta-Stellung zur Seitenkette. Die geänderte Stellung im Fenoterol - hier stehen beide Hydroxylgruppen in meta-Position zur Seitenkette-, sowie die veränderte Substitution am Stickstoffatom sind für eine langsamere Inaktivierung des Medikamentes verantwortlich (36).

spiel eine Inaktivierung des Oxytocin-Oxytocinase-Systems (38). Außerdem wird die Wirkung der Sympathomimetica von weiteren Faktoren beeinflusst: Progesteron führt zu einer Sensibilisierung der Betarezeptoren (20) und unterstützt so den muskelrelaxierenden Effekt. Auch ein Zusammenhang mit der Prostaglandinbiosynthese wird beschrieben. Sie scheint zwar durch Fenoterol gehemmt zu werden (38), aber umgekehrt durch niedrige Konzentrationen von Betamimetica stimulierbar, wobei dies zu einem gegenteiligen Effekt führt (21) - eventuell eine Erklärung des Phänomens, daß es nach plötzlichem Absetzen der Medikation zu intensiver Muskeltätigkeit des Uterus kommt. Andererseits wird auch beschrieben (10), daß Prostaglandine wie Betamimetica die Adenylatcyclase stimulieren.

Pharmakokinetik und Metabolismus

Fenoterol wird hauptsächlich als Infusionslösung und oral gegeben. Nach Informationen der Herstellerfirma für Partusisten^R (Fa. Boehringer, Ingelheim) beträgt die therapeutisch zum Einsatz kommende optimale Dosierung bei Verwendung in Infusionen 0,5 - 3,0 µg/min, wobei stets die niedrigste tokolytisch wirksame Dosis gewählt werden sollte. Die orale Dosierung beträgt eine Tablette zu 5 mg in jeweils drei- bis sechsständigem Abstand, auch hier kann die Dosis je nach ausreichender Tokolyse entsprechend reduziert werden. WEIDINGER et al. (52) führten die Infusionen 12 Stunden über den Wehenstopp hinaus durch. Anschließend wurde mit der peroralen Tablettenbehandlung begonnen, wobei die Medikation in den folgenden Tagen schrittweise abgebaut wurde. Dabei betrug bei hundert tokolytisch behandelten Schwangeren die höchste intravenös verabfolgte Gesamtmenge an Fenoterol 156,8 mg innerhalb von 42 Tagen und die höchste orale Dosierung 1750 mg innerhalb von 56 Tagen. Die Behandlungsdauer schwankte zwischen 3 und 78 Tagen. Bei intravenöser Verabreichung erreicht der Blutspiegel

sein Maximum sofort, nach oraler Gabe nach 2 Stunden (36). Die Ausscheidung erfolgt mit einer Halbwertszeit von 6 - 7 Stunden hauptsächlich über die Nieren in konjugierter Form als Sulfat. Die Halbwertszeit von frei verfügbarem Fenoterol beträgt ca. 1 Stunde bei einer weitgehend gleichmäßigen Verteilung auf alle Organe, abgesehen von einer nur zeitweiligen Kumulation in Niere und Leber, bedingt durch deren exkretorische Funktion. Die Placentaschranke ist von Fenoterol bereits in der Frühschwangerschaft passierbar. WEIDINGER et al. (56) und WIEST et al. (58) ermittelten dabei bei üblicher Dosierung eine maximale maternale Serumkonzentration von ca. 5 ng/ml mit einer Halbwertszeit von ca. 100 Minuten und eine fetale Konzentration von im Mittel 0,3 ng/ml und 0,6 ng/ml im Herz. Hin-
gewiesen wurde dabei auf die Möglichkeit, daß auch nach Absetzen der Medikation aufgrund einer Akkumulation in der Amnionsflüssigkeit noch Fenoterol im Foet nachweisbar sein kann.

Wirkungen von Fenoterol

Die beschriebene gleichmäßige Verteilung von Fenoterol im mütterlichen und fetalen Organismus, kombiniert mit der Tatsache, daß Betarezeptoren in vielen Organen und Geweben vorkommen, und die Spezifität von Beta-2-Mimetica nur relativ ist, diese also auch eine Beta-1-Aktivität aufweisen, führt zwangsläufig zu den mannigfaltigen Wirkungen von Fenoterol. Bezüglich der wehenhemmenden Wirkung auf den Uterus sei folgendes angemerkt: Nach RICHTER et al. (32) besteht zwischen der Wirksamkeit der Langzeittokolyse und der klinischen Symptomatik bei Behandlungsbeginn ein Zusammenhang. So sinkt bei einem sehr hohen sich aus einem Punkteschema (Wehen, Blasensprung, Blutung, Dilatation) ergebenden Tokolyseindex, also beispielsweise bei einer Zervixöffnung von mehr als 2 cm und eindeutig gesprungener Fruchtblase die Wirksamkeit der Langzeittokolyse erheblich,

wobei sich aber für 24 bis 48 Stunden eine Geburt noch in über 80 % der Fälle aufhalten läßt. Zusammenfassend kann auch bei unterschiedlicher Definition des Behandlungsergebnisses von einer klinischen Erfolgsrate zwischen 59 % und 91 % ausgegangen werden. Welche Auswirkungen sich daraus auf die klinische Praxis ergeben, verdeutlicht eine Zusammenfassung einer Studie der Ergebnisse tokolytischer Therapie an der Universitäts-Frauenklinik in Freiburg innerhalb von 2 Jahren (44): In 60 % der Fälle mit Tokolyse wurde ein Geburtsgewicht von 2500 g erreicht. 50 % der Kinder wurde überhaupt eine Reifung zum Frühgeborenenstadium ermöglicht, 50% der Kinder wurden termingerecht geboren, die perinatale Sterblichkeit war spürbar geringer. Diese Daten dürfen aber nicht die anderen Wirkungen der Betamimetica vergessen lassen, die im folgenden aus der bereits erwähnten Abhandlung von RICHTER et al. (32) zusammenfassend wiedergegeben werden.

Die Langzeitbehandlung verursacht eine Reihe subjektiver Erscheinungen wie Herzklopfen, feinschlägigen Tremor, Übelkeit, Erbrechen und selten Kopfschmerzen. Sie stehen in Zusammenhang mit den systemischen Wirkungen. Als Elektrolytveränderung imponiert ein rascher Abfall der Kaliumkonzentration unmittelbar nach Infusionsbeginn. Weitere Veränderungen ergeben sich bezüglich des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels: Der Blutzuckerwert stellt sich bei Langzeittokolyse auf einen höheren Wert ein, entsprechend wird der Insulinbedarf tokolyzierter diabetischer Schwangerer höher. Nach Langzeittokolyse Geborene weisen einen niedrigeren Blutzuckerwert auf. Da die Lipolyse ebenfalls gesteigert ist, kommt es in Verbindung mit der Metabolisierung der vermehrt freigesetzten Glucose zu einer Anhäufung saurer Metaboliten mit einer leichten metabolischen Acidose und Ketonurie. Dieser veränderte Säure-Basen-Status ist auch beim Foeten nachweisbar. Weiter läßt sich eine Abnahme der Thrombozyten-Aggregation unter

dem Einfluß von Betamimetica zeigen. Hingewiesen sei außerdem noch auf mögliche Veränderungen endokriner Parameter, in seltenen Fällen die Manifestation einer latenten Myotonie und die Mitbeteiligung anderer Hohlorgane an der relaxierenden Wirkung von Fenoterol, die zu Obstipation und im Bereich der Nieren und ableitenden Harnwege zu Stauungserscheinungen führen kann. Wichtig in diesem Zusammenhang ist die bronchodilatierende Wirkung von Fenoterol, die ihre Anwendung in der Asthmatherapie findet. Zusätzlich bemerkenswert ist die Beobachtung von SALING (35) einer Hemmung der Lungenreifung des Foeten mit damit verbundenen pathologischen Lezithinwerten nach Langzeittokolyse.

RICHTER et al. (32) beschreiben auch die kardialen Wirkungen. Da diese den Bezug zur vorliegenden Arbeit darstellen, wird auf sie ausführlich eingegangen. Bereits 1959 berichteten RONA et al. (33) von makroskopisch und mikroskopisch erkennbaren Herzmuskelnekrosen an Rattenherzen, ähnlich denen ischämischer Nekrosen, nach Gabe des Betamimeticums Isoproterenol. 10 Jahre später konnten BLOOM et al. (3) unter ähnlichen Versuchsbedingungen zusätzlich elektronenoptisch eine Schwellung der Mitochondrien, die dichte Ablagerungen aufwiesen, darstellen. Diese Ablagerungen unterschieden sich in nichts von Calciumablagerungen, die auf andere Weise experimentell in den Mitochondrien verursacht werden konnten. In weiteren Arbeiten wurde immer wieder auf eine mögliche Myokardschädigung sowohl der Mutter als auch des Foeten durch den Einsatz von Betasympathomimetica hingewiesen. So berichteten HOFMANN et al. (15) über elektive Parenchymnekrosen in der Gewebekultur überlebenden fetalen Herzmuskels. Auch WEIDINGER et al. (55) konnten an Zellkulturen menschlichen fötalen Herzens unter dem Einfluß von Fenoterol morphologisch Myokardschäden nachweisen: Die Zellen wiesen nach Behandlung mit 0,5 ng/ml Fenoterol beginnende De-

generationen auf, nach Behandlung mit 5 ng/ml Fenoterol im Nährmedium zeigten sich schwere Veränderungen des endoplasmatischen Retikulums und der Mitochondrien. Mit Hilfe histochemischer Methoden konnten MATYSIAK et al. (23) eine Myokardschädigung nach langer Zufuhr hoher Dosen Fenoterol zeigen. Berichte von histologisch nachweisbaren kardialen Veränderungen bei verstorbenen Kindern nach Langzeittokolyse (45), sowie Untersuchungen von VOGTMANN et al. (48) über Veränderungen der myokardialen Kontraktilität Neugeborener nach Tokolyse bestärken in der Vermutung einer kardiotoxischen Wirkung. Nach RICHTER et al. (32) kommt es aufgrund der positiv inotropen, chronotropen und dromotropen Wirkung von Fenoterol zu einem Anstieg der mütterlichen Herzfrequenz zwischen 26,3 % und 35 %, das Herzzeitvolumen steigt zwischen 70 % und 200 %, der Kontraktilitätsindex um 60 %. Neben einem Abfall des peripheren Widerstands um 30% sinkt auch der arterielle Mitteldruck um rund 10 %. Im mütterlichen EKG erkennt man als Zeichen der Hypokaliämie bereits wenige Minuten nach Infusionsbeginn eine ST-Senkung, sowie eine deutliche Abflachung der T-Welle. Inwieweit fetale kardiovaskuläre Parameter verändert werden, läßt sich nach RICHTER et al. (32) nicht ausreichend beurteilen. Die Stimulierung der Betarezeptoren durch Fenoterol führt dabei über die oben beschriebene Vermittlung des Adenylatcyclase-cAMP-Systems zu einem erhöhten Einstrom von Calciumionen in die Herzmuskelzellen. Da dies eine erhöhte Aktivität der calciumabhängigen ATPase in den Myofibrillen zur Folge hat, erfolgt ein erhöhter Verbrauch von ATP mit der oben in Prozentwerten dargestellten erhöhten Muskelkontraktilität (9). Ein erhöhter Sauerstoffbedarf mit einer Intensivierung der oxidativen ATP-Resynthese ist die Folge. Wie es aus diesem Zusammenhang heraus zu den oben beschriebenen histologischen Gewebeveränderungen kommen kann, wurde von FLECKENSTEIN et al. (8,9) be-

schrieben. Bei einer zu hohen Dosis von Betamimetica erfolgt eine weitere Ansammlung intrazellulären Calciums, ein Abfall von ATP und Kreatinphosphat wegen des stark angewachsenen Verbrauchs, sowie zusätzlich Schädigungen der Mitochondrien in ihrer Funktion und Struktur. Ab einem bestimmten Ausmaß des Defizits an energiereichem Phosphat kommt es ähnlich wie bei der Ischämie zu sichtbaren Strukturveränderungen am Organ. Aber auch kleine Dosen verursachen vor allem subendokardial disseminierte Zellnekrosen, wobei ihr Ersatz durch narbiges Bindegewebe zu einer sogenannten hypertrophischen Kardiomyopathie führen kann. Bezüglich der Wirkungen auf das fetale Herz konnten ähnliche Effekte (36) gefunden werden, zumal - wie dargestellt - Fenoterol placentagängig ist.

Verschiedene Arbeiten stellen die geschilderte Kardiotoxizität in Frage: NOTMAN et al. (27) konnten bei mit Fenoterol behandelten Ratten-Foeten keinerlei Veränderungen am Myokard feststellen. Sie führten dies auf die äußerst geringe diaplacentare Passage des Medikamentes zurück. Untersuchungen von MEINEN et al. (26), STEYER et al. (40) und WELLSTEIN et al. (57) erbrachten bei tokolytisch behandelten Schwangeren keinen Hinweis auf einen Anstieg des herzmuskelspezifischen Creatinkinase-Isoenzym MB und der Creatinkinase B, sowie des Serum-Myoglobins im Sinne einer Myokardschädigung. Desgleichen erbrachten die bezüglich der Frage einer Beeinträchtigung der Herzfunktion von HAUSEN et al. (12), HILTMANN et al. (14) und SCHUHMANN et al. (37) durchgeführten Untersuchungen über Veränderungen von Herzfrequenz, Blutdruck, Schlag- und Herzminutenvolumen und EKG nach Tokolyse zwar die zu erwartenden Hinweise auf die positiv inotropen, chronotropen und dromotropen Wirkungen von Betamimetica, Zeichen einer Herzschädigung konnten jedoch nicht nachgewiesen werden. Ähnliches Verhalten zeigten fetale Herzen: ODDOY et al. (28), die die Herzen von

perinatal verstorbenen unreifen Früchten nach Fenoteroltherapie der Mutter im Vergleich zu Kontrollfällen histomorphologisch untersuchten, konnten keine größeren Veränderungen nachweisen. EKG-Auswertungen, Herzgrößen-Messungen, sowie Bestimmungen der Serumelektrolyte, der Creatinkinase und des Creatinkinase-Isoenzyms MB durch SPELGER et al. (39) ergaben keine pathologischen Befunde bei Neugeborenen nach Tokolyse. Vergleichende echokardiographische Untersuchungen durch HOFSTETTER et al. (16) an Neugeborenen unter dem Einfluß von Fenoterol zeigten keine Unterschiede in Ventrikelgrößen und Kontraktilitätsparametern. Auch MEINEN et al. (25) konnten bei 516 untersuchten Kindern nach Langzeittokolyse weder im EKG noch anhand laborchemischer Parameter wie CK-MB, CK-B und Serum-Myoglobin Hinweise auf myokardiale Schäden finden. Ebenso erbrachte eine Untersuchung von STIX et al. (41) über mögliche kardiale Spätfolgen bei Kindern im Alter von fünf bis zehn Jahren nach Langzeittokolyse mit Fenoterol und Verapamil keinen Anhalt für Myokardschäden. Ein zwingender Beweis für die Kardiotoxizität von Fenoterol konnte also bisher noch nicht erbracht werden.

1.3 Calciumantagonisten

Wirkungsmechanismus

Eine Möglichkeit, der Überladung der Muskelzelle mit Calciumionen zu begegnen, besteht in der Gabe eines Calcium-Antagonisten, beispielsweise des Verapamil (Isoptin^R, Fa. Knoll, Ludwigshafen). Verapamil reduziert die Muskelkontraktilität durch Hemmung des transmembranösen Calciumeinstroms (43). Dadurch wird die mechanische Aktivität eingeschränkt, der Sauerstoffbedarf gedrosselt und die energetische Bilanz verbessert. Außerdem wird die glatte Muskulatur durch die Erregungshemmung und die Entkopplung von Erregung und Kontraktion relaxiert, Koronargefäße und auch alle übrigen Gefäße dilatieren und eine bestehende myokardiale Ischämie wird

auf diese Weise reduziert.

Auswirkungen einer Kombinationstherapie mit Fenoterol

Aufgrund dieser Eigenschaften erscheint eine kombinierte Gabe von Fenoterol mit Verapamil zur Wehenhemmung günstig: Zum einen läßt sich der Zusammenbruch der myokardialen ATP- und Kreatinfraktionen und eine daraus resultierende Bildung von Zellnekrosen wegen der durch Sympathomimetica induzierten und nun gebremsten Calcium-Überladung weitgehend vermeiden. Zum anderen wird der relaxierende Effekt von Fenoterol durch Verapamil synergistisch beeinflusst. Wie die Praxis zeigt, ist der denkbare Nutzen von Verapamil jedoch umstritten: WEIDINGER et al. (53, 54) schildern die Kombination mit Verapamil zwar als gute Möglichkeit, sowohl bei der Mutter als auch beim Kind unerwünschte Begleitsymptome einer alleinigen Therapie mit Fenoterol zu vermeiden. Nicht nachgewiesen werden konnte jedoch ein protektiver Effekt in Arbeiten von HOFSTETTER et al. (17) und STRIGL et al. (42), die eine Beeinflussung von Herzfrequenz, Blutdruckamplitude, Kontraktilitätsparametern und Sauerstoffverbrauch durch Verapamil ausschlossen. Vergleichende Untersuchungen der Ergebnisse der Tokolyse mit Fenoterol, einer Kombinationstherapie mit Fenoterol/Verapamil und Fenoterol/Metoprolol, einem Betablocker, von TROLP et al. (46) ergaben, daß nur die Herzfrequenz in den ersten 24 Stunden der Tokolyse bei einer Kombinationstherapie mit Verapamil etwas sinkt. Ansonsten konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zu einer alleinigen Therapie mit Fenoterol gefunden werden.

1.4 Herzmuskelmitochondrien

Im Abschnitt 1.2 wurde geschildert, wie die Einwirkung von Fenoterol an der Herzmuskelzelle ein Überangebot an Calcium-Ionen und damit verbunden einen starken Verbrauch von ATP und Sauerstoff bedingt. Im folgenden wer-

den als Zusammenfassung der Darstellungen von DARGEL (5), HARPER et al. (11) und VARY et al. (47) die sich daraus ergebenden Wirkungen auf die Mitochondrien des Herzmuskels sowie zunächst deren wesentliche Funktionen wiedergegeben.

Oxidative Phosphorylierung

Im Energiestoffwechsel des Organismus und damit der Herzmuskelzelle haben die Mitochondrien eine zentrale Bedeutung: an ihrer Innenmembran ist die sogenannte Atmungskette lokalisiert, eine Sequenz NAD-abhängiger Dehydrogenasesysteme und Redoxpartner unterschiedlichen Potentials. Über den dort ablaufenden als biologische Oxidation beziehungsweise oxidative Phosphorylierung bezeichneten Vorgang, der sich prinzipiell auf die stark exergone Reaktion von Wasserstoff mit Sauerstoff unter Bildung von Wasser zurückführen läßt, läuft der größte Teil der Energiegewinnung in Form von ATP ab. Der Wasserstoff wird dabei über verschiedene Substrate in die Atmungskette eingeschleust: die alpha-Ketosäuren, z.B. Pyruvat aus der Glykolyse und alpha-Ketoglutarat aus dem Citratcyclus benötigen dazu komplexe Dehydrogenasesysteme, der Wasserstoff anderer Substrate wie beta-Hydroxyacyl-CoA aus der Fettsäureoxidation, der Ketonkörper beta-Hydroxybutyrat, Glutamat, Malat und Isocitrat aus dem Citratcyclus wird über entsprechende Dehydrogenasen direkt auf den ersten Komplex der Atmungskette, NAD, übertragen. Der so eingeschleuste Wasserstoff wird im folgenden auf Ubichinon weitergeleitet. Dieses als Coenzym Q bezeichnete Protein stellt eine weitere Sammelstelle für Reduktionsäquivalente von Substraten dar, z.B. aus der Oxidation von Succinat, alpha-Glycerophosphat und Acyl-CoA. Der Übergang des Wasserstoffes von Succinat auf Coenzym Q wird von dem zweiten Komplex der mitochondrialen Atmungskette katalysiert, dessen enzymatisch aktive Komponente die Succinatdehydrogenase darstellt. Bis zum

Coenzym Q wird der Wasserstoff an den verschiedenen Dehydrogenasen kovalent gebunden transportiert, danach wird er durch Abgabe von Elektronen an die Cytochrome protoniert, d.h. ab hier werden nur noch Elektronen transportiert. Diese fließen über die Cytochrome b, c und a, die entsprechend ihrem ansteigenden Redoxpotential angeordnet sind. Ein dritter Komplex, der unter anderem aus Cytochrom c_1 , Cytochrom b, Eisenschwefelprotein, Ubichinon und Phospholipiden besteht, katalysiert dabei zunächst den Elektronentransport zwischen Ubichinon und Cytochrom c. Als vierter Komplex fungiert die Cytochromoxidase, an der über die Cytochrome a und a_3 die Übertragung der Elektronen auf Sauerstoff erfolgt, worauf die Reaktion mit den Protonen unter Wasserbildung zum Abschluß kommt.

Eng verknüpft mit diesem Reaktionsablauf ist die Synthese von ATP, wobei der genaue Reaktionsmechanismus noch nicht exakt bekannt ist. Als in ihren wesentlichen Grundzügen heute bewiesen, sei die chemiosmotische Theorie genannt. Nach ihr werden mit der durch die Redoxreaktionen der biologischen Oxidation gewonnenen Energie Protonen auf der Außenseite der Mitochondrienmembran angesammelt. Da diese Membran für Ionen und besonders Protonen wahrscheinlich nicht frei permeabel ist, entsteht eine elektrochemische Potentialdifferenz, weshalb zum Erstellen des Protonengleichgewichtes Energieaufwand nötig ist. Der dadurch bedingte Verlust an freier Energie aktiviert eine membranständige ATP-Synthase, die aus ADP und anorganischem Phosphat über ein Zwischenprodukt ATP bildet. Nach der chemiosmotischen Theorie ist die Atmungskette in der Innenmembran in drei Redoxschleifen angeordnet. Hingewiesen sei auf die Tatsache, daß das angenommene Zwischenprodukt allerdings bisher nicht nachgewiesen werden konnte, was zu weiteren Theorien, die hier nicht zu erörtern sind, Anlaß gab. Im Verlauf der Atmungskette gibt es zwischen NADH und Sauerstoff im wesent-

lichen drei Phosphorylierungsstellen, an denen Redoxvorgang und ATP-Synthese miteinander verknüpft sind. Angegeben als erste Phosphorylierungsstelle wird der Übergang von Reduktionsäquivalenten zwischen NAD und dem Nicht-Hämeisen der NADH-Dehydrogenase, als zweite der zwischen Cytochrom b und Cytochrom c, als dritte der zwischen Cytochrom a/a₃ und Sauerstoff. Dies macht verständlich, daß bei Einschleusung des Wasserstoffes über Komplex I der Atmungskette pro Atom verbrauchten Sauerstoff drei Moleküle ATP, und bei Oxidation über Komplex II zwei Moleküle ATP entstehen. Für die Substrate Glutamat/Malat ergibt dies also einen theoretischen Quotienten P : O von 3, für Succinat von 2. Weil aber ein Teil der Redoxenergie zum Transport des in den Mitochondrien synthetisierten ATP nach außen verwendet werden muß, ergeben sich niedrigere Werte (P/O - Quotient für Glutamat/Malat 2,0 und für Succinat ungefähr 1,3). Da Substratoxidation und ATP-Bildung wie bereits erwähnt miteinander eng gekoppelt sind, ist bei ausreichendem Substrat- und Sauerstoffangebot die Geschwindigkeit beider Reaktionsabläufe eine Funktion der ADP- und Phosphatkonzentration. Nach einer von CHANCE et al. 1955 (4) erarbeiteten Nomenklatur lassen sich dabei verschiedene Stadien im Aktivitätszustand einer Zelle, beziehungsweise der Mitochondrien erkennen, von ihnen seien hier die beiden wesentlichsten genannt: Im Ruhestatus einer Zelle ist die Substratkonzentration relativ hoch und der ATP-Verbrauch gering, es resultiert eine geringe Atmungsgeschwindigkeit, dies ist nach obiger Nomenklatur der "kontrollierte" Status. Steigt dagegen die Arbeitsleistung der Zelle, sinkt die ATP-Konzentration wegen des erhöhten Verbrauchs und kommt es zu einer Anhäufung von ADP - dies entspricht dem "aktiven" Status des als Atmungskontrolle bezeichneten Vorgangs. Hier liegt ADP, Phosphat und Substrat im Überschuß vor, die Atmungsgeschwindigkeit wird ausschließlich von der

maximalen Umsatzkapazität der beteiligten Enzymsysteme bestimmt.

Mitochondrialer Ionentransport

Der Aufbau von Konzentrationsgradienten ist, wie bereits oben erwähnt, für ATP-Synthese, Anionenaustausch und Regulation von Stoffwechselprozessen intra- und extramitochondrial von Bedeutung, wobei die dem Transport der einzelnen Stoffe zugrundeliegenden Mechanismen noch nicht restlos geklärt sind. So können Kationen die mitochondriale Innenmembran nur mit Energieaufwand oder durch Veränderungen der Permeabilität überwinden. Von wesentlicher Bedeutung für den Erhalt der Osmolarität ist dabei Kalium, dessen Konzentration im Matrixraum dreifach höher als die von Natrium ist. Für Calcium besteht ein ATP-abhängiger Transportmechanismus. Die Mitochondrien sind in der Lage, Calcium zu akkumulieren, wobei dies nur in Anwesenheit permeabler Anionen möglich ist - parallel dazu findet ein Phosphateinstrom statt mit Bildung und Ablagerung von Hydroxylapatit. Hohe Calcium- und Phosphatkonzentrationen steigern über eine Freisetzung mitochondrialen Magnesiums die Membranpermeabilität für Ionen und Nicht-elektrolyte und führen so zu einer Schwellung mit einer vollständigen Entkoppelung der mitochondrialen Atmung. Ebenfalls ATP-abhängig ist der - im Vergleich zum Calcium-Transport sehr langsam ablaufende - Transport von Magnesium, das für viele enzymatisch katalysierte Reaktionen und den Erhalt der Membranpermeabilität von Bedeutung ist. Für den Transport von Anionen wie Intermediaten des Citratcyklus, Aminosäuren, Phosphat, Pyruvat und Adeninnukleotiden, deren Anwesenheit für die oxidative Phosphorylierung und weitere Stoffwechselprozesse wesentlich ist, existieren weitere Transportmechanismen, meist in Koppelung an ein Kation oder im Austausch mit einem Anion.

Mitochondriale Strukturveränderungen

Da die Innenmembran der Mitochondrien eine Permeabilitätsbarriere darstellt, während die Außenmembran weitgehend durchlässig ist, können Mitochondrien entsprechend osmotischer Verhältnisse schwellen, beziehungsweise schrumpfen, wobei diese Vorgänge aktiv, also energiebedürftig, oder auch passiv ablaufen können. So bedingt - wie bereits oben dargestellt - eine zunehmende Calcium-Konzentration eine immer stärkere - passiv bedingte - Ablösung der Außenmembran und damit Schwellung der Mitochondrien. Aber auch andere Stoffe zeigen eine ähnliche Wirkung, so z.B. die an der Innenmembran lokalisierten Phospholipasen, wobei der durch sie ausgelösten Schwellung besondere Bedeutung für die Schädigung von Zellen und Geweben durch Anoxie und Ischämie zukommt. Geschwollene Mitochondrien besitzen prinzipiell die Fähigkeit zur Formrückbildung, zur Kontraktion, die durch Bereitstellung von Energie (Elektronentransport oder ATP-Spaltung) erfolgt - so können auch spontane Volumenschwankungen in Abhängigkeit vom jeweiligen mitochondrialen Zustand auftreten.

Mögliche Auswirkungen der Tokolyse auf die Mitochondrien

Wie dargestellt, ist die Rate der oxidativen Phosphorylierung und des Sauerstoffverbrauchs mit der Rate der ATP-Nutzbarmachung verknüpft. Der durch die Einwirkung von Fenoterol auf die Herzmuskelzelle über die in Abschnitt 1.2 beschriebenen Mechanismen bedingte ATP-Verbrauch hat eine Abnahme der Gesamt-Adenin-Nukleotidmenge zur Folge. Durch diesen Verlust sind wesentliche beschriebene Vorgänge, von denen viele ATP-abhängig sind - beispielsweise der mitochondriale Calcium-Transport - und letztlich die oxidative Phosphorylierung in ihrem Ablauf behindert. Außerdem treten unter anderem durch die durch Fenoterol und den ATP-Verlust bedingte Calcium-Akkumulation mitochondriale Strukturveränderungen auf, die vermut-

lich mangels ATP nicht wieder rückbildungsfähig sind. Dies alles kann möglicherweise zu einer Reihe weiterer Veränderungen des zellulären Metabolismus führen und letztlich den irreversiblen Zelluntergang bewirken.

1.5 Ziel der Arbeit

Wie in Abschnitt 1.2 dargestellt, ist der Einsatz von Betasympathomimetica mit vielseitigen Nebeneffekten auf Mutter und Kind verbunden. In bereits zitierten Untersuchungen von WEIDINGER et al. (50, 55) wurden fetale menschliche Herzen jeweils mit Fenoterol und Verapamil inkubiert. Der vierte Versuchsansatz bestand in einer unbehandelten Kontrolle. WEIDINGER et al. konnten dabei durch licht- und elektronenmikroskopische Aufnahmen belegen, daß durch Fenoterol entstandene Myokardschäden und speziell Alterationen der mitochondrialen Struktur bei der Kombination mit Verapamil nicht auftreten. Dies bestätigt zwar Vorstellungen über die Wirkungsmechanismen der beiden Medikamente, steht aber in Widerspruch zu Ergebnissen mehrerer in Abschnitt 1.2 und 1.3 zitierter anderer Abhandlungen, in denen kein entsprechender Effekt - schädigend bei Fenoterol, protektiv bei Verapamil - nachgewiesen werden konnte. Aus Abschnitt 1.4 wird die zentrale Rolle des mitochondrialen Stoffwechsels für die Myokardfunktion deutlich, ebenso die engen Beziehungen mit durch Fenoterol an der Muskelzelle hervorgerufenen Veränderungen. In Anlehnung an die oben erwähnten Untersuchungen von WEIDINGER et al. wird in der vorliegenden Arbeit geprüft, ob eine Tokolyse mit Fenoterol allein und in Kombination mit Verapamil Einfluß auf die Aktivität von Mitochondrien im Rattenmyokard hat. Als empfindlicher Parameter für die strukturelle Intaktheit der Mitochondrien gilt ihr Atmungskontrollkoeffizient (respiratorischer Kontrollindex = RCI), der das Verhältnis ihrer Atmungsgeschwindigkeiten in Gegenwart und nach Verbrauch von ADP ausdrückt (5). Dieser Index, sowie

der auf Seite 18 beschriebene P/O - Quotient werden mit der im folgenden beschriebenen Methodik unter dem Einfluß beider Medikamente gemessen, wobei die Mitochondrien aus Rattenmyokard isoliert wurden, das in Größe und Konsistenz am ehesten dem menschlicher Foeten ähnlich ist.

2.1 Versuchsansätze

Um eine Beeinflussung des RCI (siehe S. 21) und des P/O - Quotienten (siehe S. 18) zu ermitteln, wurden folgende Versuchsreihen durchgeführt:

Inkubation isolierter Mitochondrien

- a) mit 0,5 ng, 5 ng, 50 ng und 500 ng Fenoterol pro ml Inkubationslösung
- b) mit 20 ng, 200 ng und 2000 ng Verapamil pro ml Inkubationslösung
- c) einer Kombination der in a) und b) genannten Medikamente und Konzentrationsbereiche

Der Konzentrationsbereich von 5 ng Fenoterol und 200 ng Verapamil entspricht dabei ungefähr der beim Menschen nach therapeutischer Anwendung der Medikamente auftretenden Transferrat-Konzentration (50, 56, 58).

Da durch obige Versuchsansätze bereits abgelaufene Reaktionen beider Medikamente nicht miterfaßt sind, wurde eine weitere Versuchsreihe eingeplant, bei der eine Inkubation des Herzgewebes direkt erfolgen sollte. Da jedoch bei direkter Inkubation des Herzgewebes mit den Medikamenten der jeweils entsprechende Ausgangswert vor Inkubation nicht ermittelbar ist, wurde diese Versuchsreihe wie in Abbildung 2 dargestellt modifiziert. Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, wird dadurch ein Vergleich zum Verhalten der Mitochondrien bei Inkubation nach a) bis c) ebenso möglich.

Die im folgenden beschriebene Methodik zur Entnahme des Herzgewebes, Isolation der Mitochondrien und Messung der Atmungsrate entspricht im wesentlichen dem am Institut für Physiologische Chemie, Physikalische Biochemie und Zellbiologie der Universität München (Prof. Dr. M. Klingenberg) durchgeführten Verfahren (*).

(*) Für die freundliche Anleitung sei an dieser Stelle
Prof. Dr. G. v. Jagow und seinen Mitarbeitern
herzlich gedankt.

1 Inkubation isolierter

Mitochondrien :

2 Inkubation des

Herzgewebes :

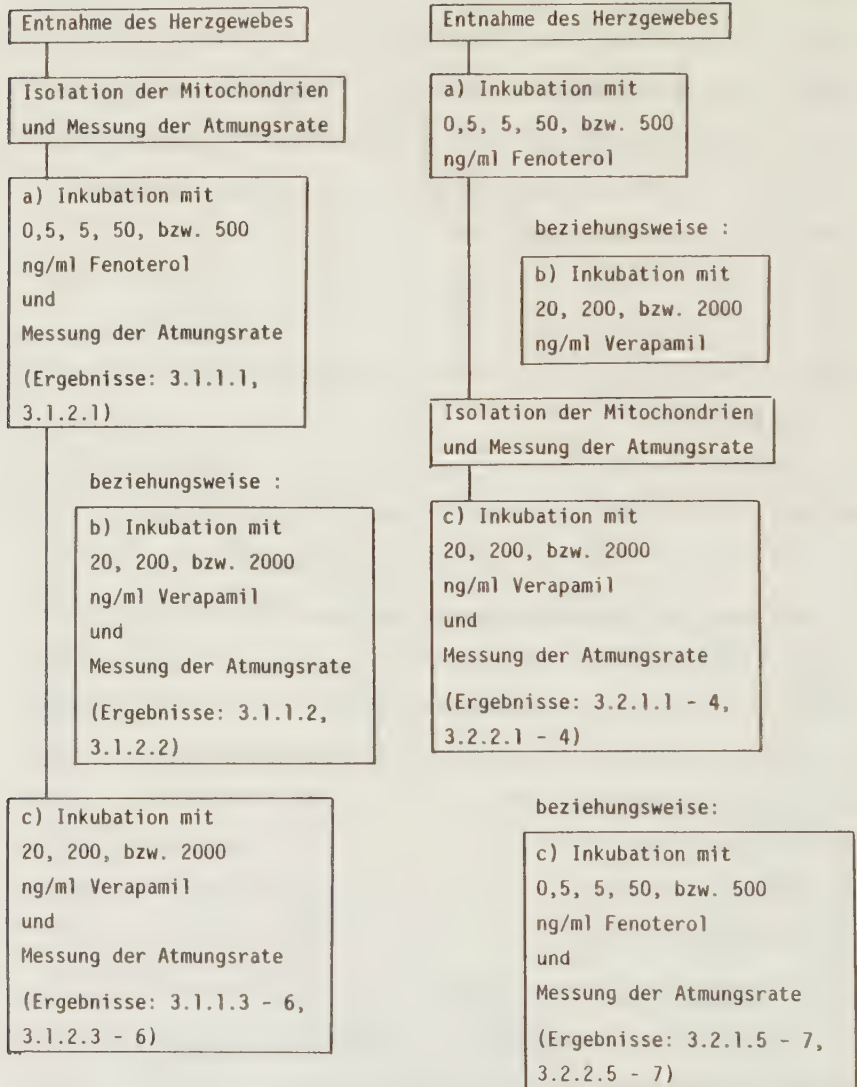


Abb. 2

Versuchsansätze mit Ablauf der Experimente

Auf die entsprechende Gliederung der in Abschnitt 3 dargestellten Ergebnisse ist in der Abbildung hingewiesen.

2.2 Entnahme des Herzgewebes

Zur Herzentnahme wurden im Mittel 150 Gramm schwere, gesunde und unbehandelte Jungratten eines einheitlichen Stammes (Sprague Dawley) dekapiert, wobei für ein Experiment jeweils eineinhalb Herzen benötigt wurden, um eine gewünschte Gewebemenge von ca. ein Gramm zu erzielen. Nach sofortiger Eröffnung des Thorax wurde das Herz dicht am austretenden Gefäßstamm mit einer sterilen Schere abgetrennt und entnommen. Das Gewebe wurde nach Entfernung von Epi- und Perikard, anhaftendem Fett und Gefäßresten zerteilt, und das Blut mit einem sterilen Tupfer entfernt. Nach diesem, nicht länger als eine halbe Minute nach jeweiliger Herzentnahme dauerndem Vorgang wurde das Gewebe in 8 ml einer Inkubationslösung (4°C) gegeben. Das dabei verwendete, vorher mit Aqua dest. und anschließend mit Inkubationslösung mehrmals ausgespülte Gefäß war, um eine konstante Temperatur zu gewährleisten, in Eis gelagert. Die Zusammensetzung der Inkubationslösung ergibt sich wie folgt: 0,3 M Sucrose (Fa. Merck), 0,001 M EDTA (Titriplex III, Fa. Merck), 0,2 M Triethanolamine (Fa. Sigma) in Aqua dest., bei einem mit KOH (Fa. Merck) eingestellten pH-Wert von 7,2 (aufbewahrt bei 4°C). Zugegeben war zur verbesserten Aufbereitung des Gewebes Subtilisin A (Fa. Novo Industri) in einer Konzentration von 0,5 mg pro Gramm Herzgewebe. Bei der Inkubation des Herzgewebes direkt mit den Medikamenten wurden zusätzlich die den in Abschnitt 2.1 in a) bis b) genannten Konzentrationen entsprechenden Volumina Fenoterol oder Verapamil zugegeben.

2.3 Isolation der Mitochondrien

Homogenisation

Das auf diese Weise isolierte und zerteilte Rattenmyokard wurde zusammen mit der Lösung nach einer Inkubationszeit von ca. 20 Minuten in einen

15 ml Glas-Teflon-Homogenisator (Fa. Braun, Melsungen) gegeben, dessen Glasgefäß zur Erzielung einer konstanten Temperatur von 4°C in Eis gelagert war.. Das Gefäß wurde dann von Hand mit langsamen drehenden Bewegungen gegen den von einem Motor mit ca. 300 rpm angetriebenen Teflonkolben gedrückt, um so nach und nach das Herzgewebe zu komprimieren und die Zellen aufzuschließen. Jede Minute wurde eine Pause eingelegt, um ein Erwärmen der Lösung zu vermeiden, und ein Absetzen der Gewebeteile im Gefäß zu ermöglichen. Nach einer Arbeitszeit von 5 Minuten war das Herzgewebe völlig homogenisiert (Abb. 3), die Lösung wurde in ein Zentrifugenglas gegeben.

Zentrifugation

Sofort im Anschluß an die Homogenisation wurde von der Lösung in einer auf 4°C gekühlten Zentrifuge (Rotixa KS, Fa. Hettich) 10 Minuten lang bei $400 \times g$, was bei dem Radius des verwendeten Rotors 1400 rpm entspricht, der Zell-Detritus abgesondert. Ohne die Kühlkette zu unterbrechen, wurde der erzielte Überstand in einem weiteren Gefäß vom Sediment getrennt, und 10 Minuten bei 4°C und $7500 \times g$, hier 9000 rpm, zentrifugiert (Ultrazentrifuge TGA 65, Fa. Kontron). Der erzielte Überstand in dem Zentrifugationsröhrchen wurde vorsichtig abgesaugt, und das als bräunlich-gelblicher Belag an seinem Boden imponierende Mitochondriensediment in 500 µl des oben angeführten Inkubationsmediums aufgeschwemmt. Nach Übernahme dieser Lösung durch eine Mikroliterpipette (Fa. Eppendorff) in einen 1,5 ml Glas-Teflon-Homogenisator (Fa. Braun, Melsungen) wurden von Hand durch langsame drehende Bewegungen des Kolbens gegen den Boden des Glasgefäßes die Mitochondrien schonend gleichmäßig gelöst und anschließend in einem 1ml Reaktionsgefäß bei 4°C aufbewahrt. Angemerkt sei noch, daß bei Homogenisation und Zentrifugation verwendete Gefäße mit Aqua dest. und Inku-

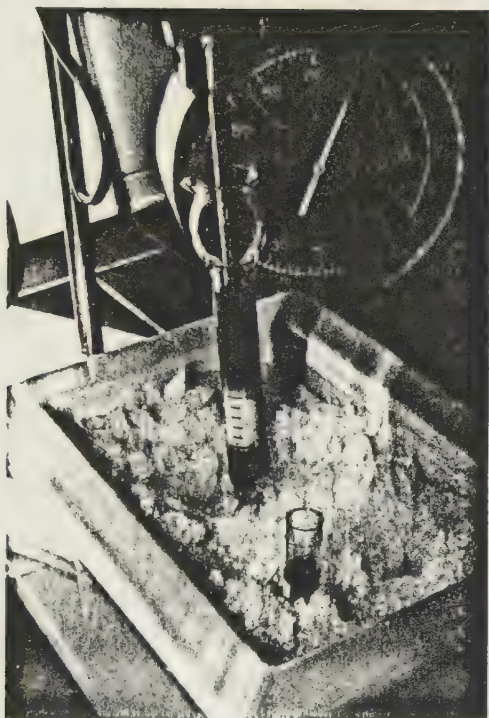


Abb. 3

Herzgewebe nach fünfminütiger Homogenisation

Der Teflonkolben des Homogenisators ist mit dem Antriebsmotor gekoppelt.
Das Glasgefäß beinhaltet Inkubationslösung mit homogenisiertem Herzgewebe.

bationsmedium mehrmals ausgespült wurden, um Verunreinigungen zu vermeiden, und stets eine gleichmäßige Temperatur aller Lösungen von 4°C durch Lagerung in Eis gewährleistet war.

2.4 Messung der mitochondrialen Atmungsrate

Aufbau und Funktionsweise der Sauerstoffelektrode

Mit einer Sauerstoffelektrode nach DELIEU et al. (6) wurden die in Abschnitt 1.4 "Oxidative Phosphorylierung" beschriebenen Aktivitätszustände der jeweiligen Mitochondrienpräparation über einen daran angeschlossenen Schreiber registriert. Ihr Aufbau sowie ihre Funktionsweise wird im folgenden in einer Zusammenfassung der Beschreibungen der Herstellerfirma (2) und von DELIEU et al. (6) erläutert: Das von der Firma Bachofer (Reutlingen) angefertigte Meßgerät besteht aus einem zylindrischen Reaktionsgefäß aus Borosilikatglas, das von einem Temperiermantel umschlossen wird, der über zwei Schläuche an einen externen temperaturkontrollierten Wasserkreislauf gekoppelt ist. Die als Scheibe konstruierte Elektrode zur Messung des Sauerstoffgehaltes der jeweiligen Lösung wird am unteren Teil des Gefäßes festgeschraubt. Sie ermöglicht so eine Abdichtung des Reaktionsgefäßes nach unten. Die obere Begrenzung bildet ein verstellbarer in das Gefäß einsteckbarer Kolben aus Plexiglas mit einer Kapillare in der Mitte zur Probenzugabe und -entnahme, die sich problemlos mit Kapillaretoren (Fa. Clinicon) durchführen ließ. Das Volumen des Probenraumes ist über eine Stellschraube am Kolben von 0,5 bis 2,0 ml auch noch während eines laufenden Experimentes nach Zugabe zusätzlicher Lösungen ohne Auswirkungen auf die Messung einstellbar. Das schräg geschliffene Ende des Kolbens ermöglicht ein luftblasenfreies Eintauchen in die zu messende Lösung, die Länge und der geringe Durchmesser der Zugabekapillare verhindert während der Messung ein Eindringen und Durchmischen mit Luftsauerstoff von

außen. Die Elektrodenscheibe besteht aus einer erhabenen, in das Gefäßlumen beziehungsweise die zu messende Lösung hineinragenden Platinkathode und einer ringförmig in einer Vertiefung angeordneten Silberanode. Über die Kathode wird mit Hilfe eines Applikators und einem Dichtungsring ein rundes, ca. 2,5 cm großes, sehr dünnes und saugfähiges Papier (bewährt hat sich Zigarettenpapier) und darüber eine Teflonmembran (Stärke 0,0125 mm) völlig glatt gespannt, wobei etwaige Verschmutzungen beider Membranen durch Berühren etc. unbedingt zu vermeiden sind, um deren Durchlässigkeit für Sauerstoff nicht zu beeinträchtigen. Eine in die Vertiefung zur Silberanode gegebene gesättigte KCL-Lösung kann vom in sie hineinragenden Papiergewebe aufgesaugt werden und bildet damit den Brückenelektrolyten zwischen Kathode und Anode. Um eine ständige Durchmischung der zu messenden Lösung und einen steten Kontakt mit der Kathode zu erzielen, liegt auf ihr ein Minimagnetührstäbchen, das von einem Magnetprüher, auf den die beschriebene Anordnung gestellt wird, mit regelbarer Geschwindigkeit angetrieben wird. Die Elektrode ist mit einem Batterie-betriebenen Spannungsgeber mit Nullpunktunterdrückung und dieser mit einem Einkanalsschreiber (Servogor, Fa. BBC) verbunden. Den schematischen Aufbau des Sauerstoffmeßgerätes zeigt Abbildung 4. Wie die Bespannung der Elektrode abläuft ist in Abbildung 5 dargestellt. Die Fotos der Abbildungen 6 und 7 zeigen die betriebsfertige Elektrode und das Reaktionsgefäß während einer Messung.

Die der Sauerstoff-Messung mit der Elektrode zugrundeliegenden Reaktionsabläufe zeigt Abbildung 8. Bei einer Polarisationsspannung von ca. 700 mV, die am Spannungsversorger einstellbar ist, wird der Sauerstoff, der in der Nähe der Platinkathode gelöst ist, abgeschieden. Die zu einer schnellen Meßreaktion erforderlichen optimalen Diffusionsbedingungen werden durch die geringe Schichtdicke von Papier- und Teflonmembran und ständiges Rühren der Lösung erreicht. Mit dem an den Spannungsgeber angeschlos-

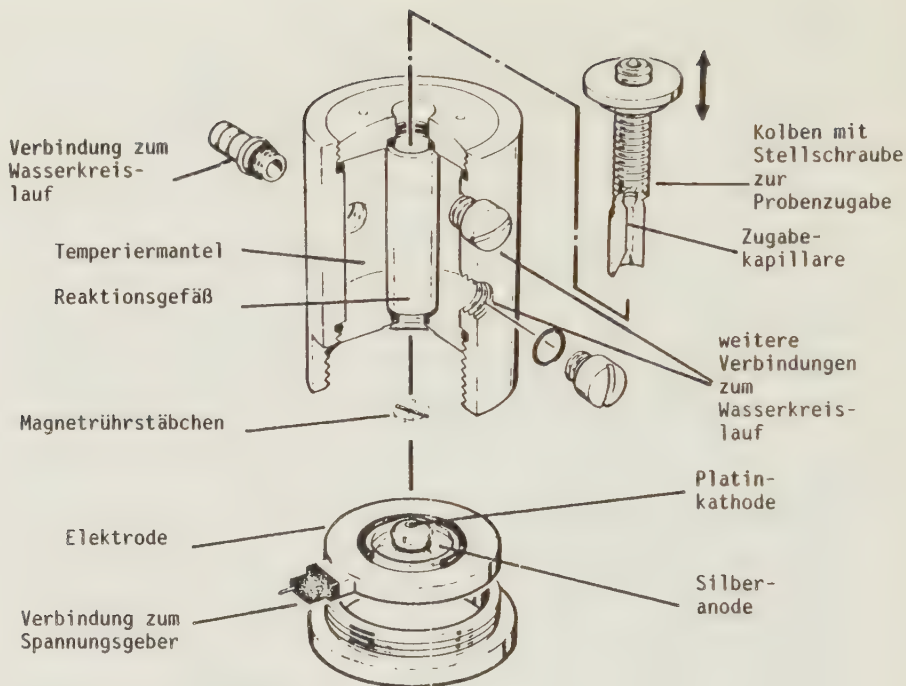


Abb. 4

Konstruktionszeichnung des Sauerstoffmeßgerätes

Fa. BACHOFER, Reutlingen (2)

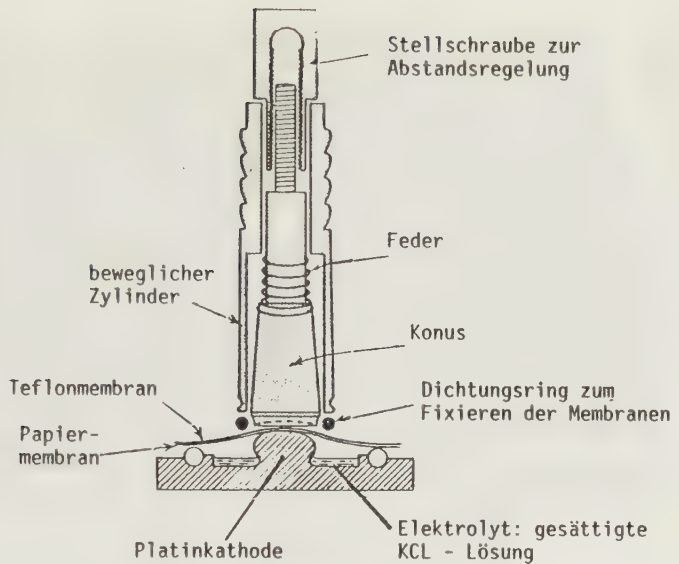


Abb. 5

Bespannung der Elektrode mit den Membranen

Mit dem dargestellten "Membranapplikator" wird der in Abbildung 6 gezeigte Dichtungsring über die auf die Platinkathode gelegte Papier- und Teflonmembran gezogen und somit ein enges luftblasenfreies Anliegen der Membran auf ihr ermöglicht (6).

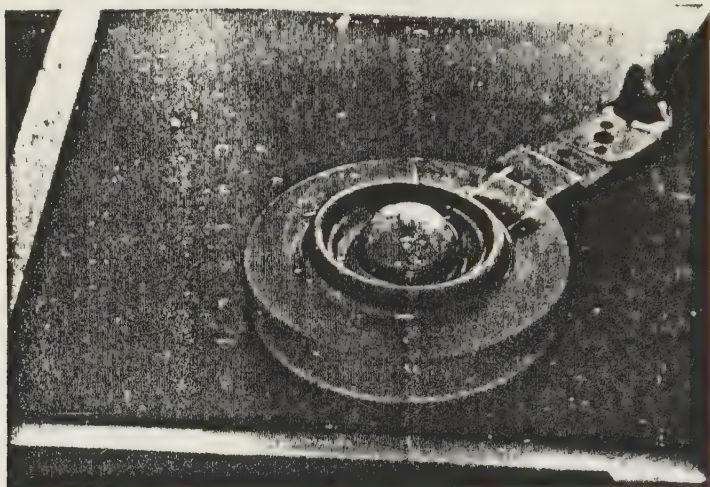


Abb. 6

Sauerstoff - Meßelektrode

Die Platinkathode ist mit der Papier- und Teflonmembran bespannt. Der Gummiring, der die beiden Membranen fixiert, bildet die Abdichtung des Reaktionsgefäßes, in das die Kathode hineinragt. In der Vertiefung der Elektrodenscheibe ist die von KCL - Lösung bedeckte Silberanode zu erkennen (Bespannung der Elektrode siehe Abb. 5).

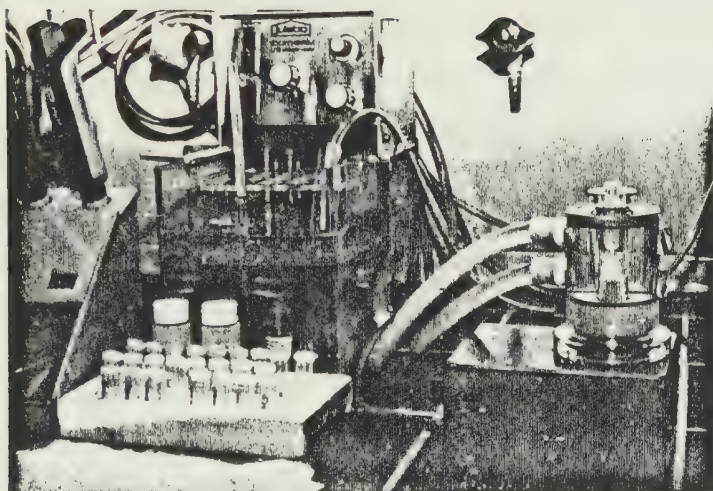


Abb. 7

Reaktionsgefäß während einer Sauerstoffverbrauchsmessung

Das Reaktionsgefäß mit der unten eingeschraubten Sauerstoff-Meßelektrode steht auf dem Magnetrührer und ist mit dem externen temperaturkontrollierten Wasserkreislauf verbunden. Zu erkennen ist ferner die zu messende gelbliche Mitochondriensuspension, sowie der eingeschobene, den Abschluß nach oben bildende Kolben mit Stellschraube und Zugabekapillare in seiner Mitte.

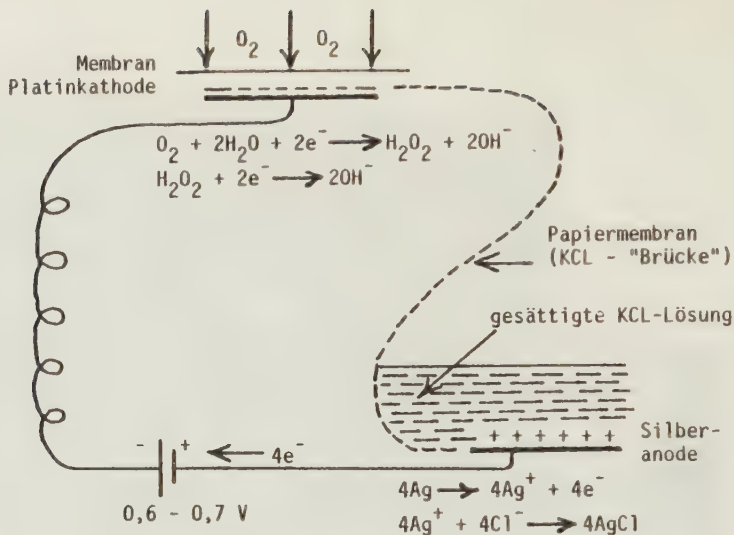


Abb. 8

Reaktionsabläufe an der Sauerstoffelektrode

Durch die zwischen beiden Elektroden angelegte Polarisationsspannung wird die Platinkathode negativ, während die Silberanode positiv geladen wird. Der durch die Membranen diffundierende Sauerstoff wird an der Platinoberfläche reduziert, wodurch ein Strom über den Brückenelektrolyten KCL fließt. Das Silber wird oxidiert und Silberchlorid abgelagert. Der Betrag des Stromes steht in direkter Beziehung zur Menge des reduzierten und in der Inkubationslösung befindlichen Sauerstoffs (6).

senen 1-Kanal-Linien-Schreiber wird der zwischen den beiden Elektroden in Abhängigkeit der Sauerstoff-Konzentration jeweils fließende Strom in einer Größenordnung von ungefähr 1 μA registriert.

Zur Eichung wurden in das Reaktionsgefäß 1000 μl Medium (siehe unten) gegeben. Die Lösung war durch vorheriges Schütteln und ständiges Rühren mit Luftsauerstoff gesättigt worden. Bei der angelegten Polarisationsspannung und eingeschaltetem Magnetrührwerk stellt sich - entsprechend der Sauerstoff-Konzentration der Lösung - eine vom Schreiber aufgezeichnete Maximalspannung von 0,1 - 2 mV ein. Nach Zugabe einiger Kristalle Natriumdithionit fällt diese Ausgangsspannung auf Werte von weniger als 100 μV ab, wobei entsprechend der Reaktion mit Natriumdithionit mit dem gelösten Sauerstoff dieser Wert die Null-Linie der in Abbildung 9 gezeigten Eichkurve darstellt. Bei einer mit der Versuchsanordnung ermöglichten konstanten Temperatur von 25°C beträgt die Löslichkeit der Luft im gegebenen Reaktionsmedium $0,48 \times 10^{-3}$ Grammatom Sauerstoff/l (29), abgesehen von täglichen Schwankungen des Luftdrucks. Da in den Experimenten ohnehin keine absoluten Konzentrationsangaben für den jeweils gelösten Sauerstoff nötig waren, sondern nur qualitative Änderungen beobachtet wurden, gilt dieser Wert als Berechnungsgrundlage der mitochondrialen Atmungsrate.

Messung der mitochondrialen Atmungsrate

Die Zusammensetzung des zur Messung verwendeten Mediums entspricht jener auf Seite 25 angeführten Inkubationslösung. Zusätzlich waren 0,004 M Kaliumphosphat (Fa. Merck), 0,130 M Kaliumchlorid (Fa. Merck) und 0,002 M Magnesiumchlorid (Fa. Merck) gelöst. Der pH - Wert von 7,2 wurde ebenfalls mit Kalilauge eingestellt. Subtilisin wurde hier nicht zugegeben, jedoch waren 0,100 g% Albumin (Behringwerke) beigemischt, um eventuell in der Mitochondrienpräparation vorhandenes Fett, das als hemmender Faktor

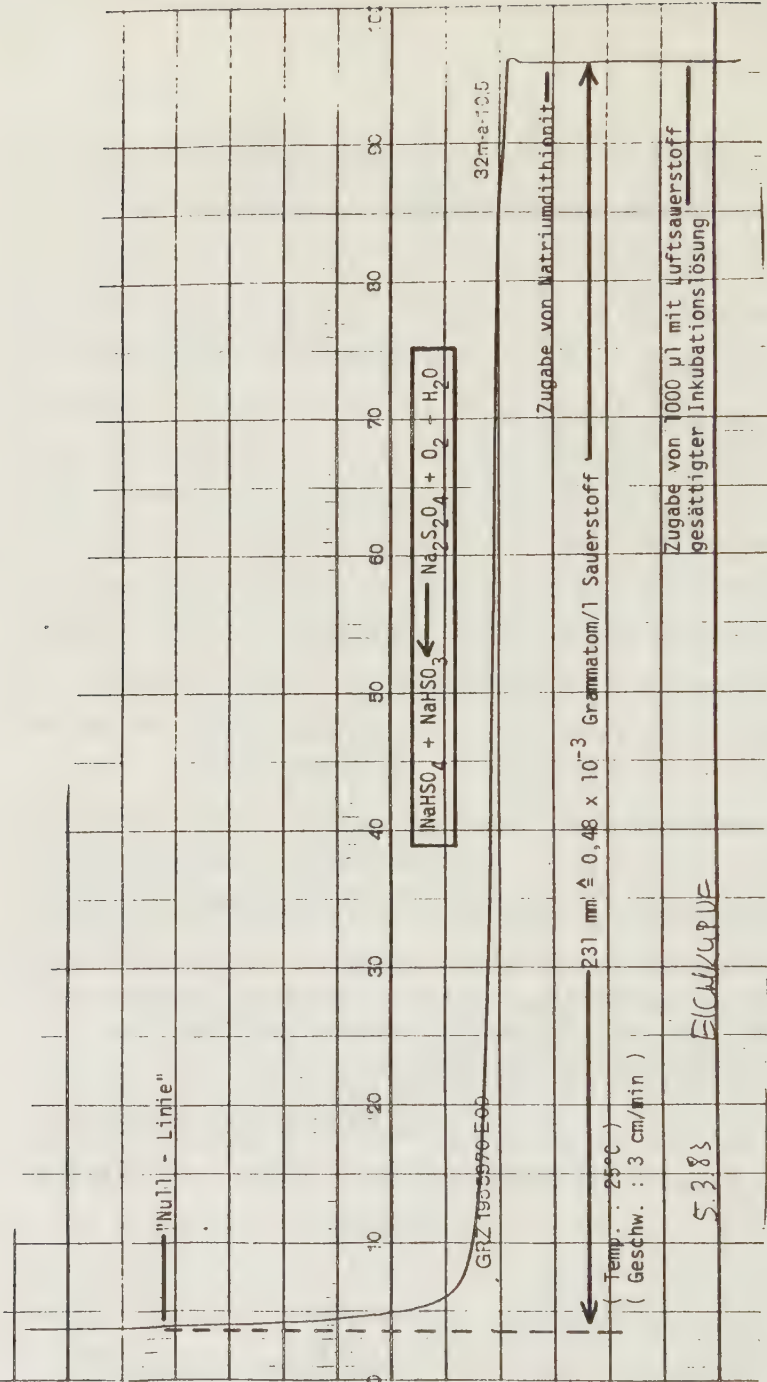


Abb. 9
 Eichkurve
 Nach Zugabe von Natriumdithionit ergibt sich der
 dargestellte Reaktionsablauf

für die mitochondriale Atmung gilt, wegzubinden. Als Substrat für die mitochondriale Atmung diente eine Lösung aus 0,500 M L-Glutaminsäure (Fa. Merck) und 0,400 M Äpfelsäure (Fa. Merck) im beschriebenen Medium bei einem mit Kalilauge eingestellten pH-Wert von 7,4.

Zu einer Messung wurde in das durch den Temperiermantel auf 25°C erwärmte Reaktionsgefäß der Sauerstoffelektrode das durch ständiges Rühren stets mit Luftsauerstoff gesättigte Medium und gegebenenfalls Fenoterol und/oder Verapamil entsprechend den Versuchsansätzen (Abb. 2) gegeben, anschließend der Zugabekolben luftblasenfrei aufgesetzt und das Rührwerk eingeschaltet. Nach Stabilisierung der Ausgangsspannung auf den entsprechenden Wert der vor jeder Meßreihe erstellten Eichkurve (siehe oben, sowie Abb. 9) wurden mit einem Kapillektor (Fa. Clinicon) 50 µl der Mitochondriensuspension über die Kapillare des Kolbens eingegeben. Der sofort danach zu beobachtende Abfall der Sauerstoffkonzentration ist durch eine gewisse Eigenaktivität der Mitochondrien wegen noch vorhandenen Endosubstrates erklärbar. Nach erneuter Stabilisierung des Wertes wurden 15 µl Substrat (Glutamat/Malat) zugegeben. Der darauf zu registrierende Abfall der Sauerstoffkonzentration stellt den in Abschnitt 1.4 "Oxidative Phosphorylierung" beschriebenen "kontrollierten Status" dar, bei dem die Mitochondrien mit geringer Aktivität atmen. Nach Zugabe von 2 µl 20 mM ADP (Fa. Boehringer, Mannheim / gelöst im beschriebenen Medium bei einem mit Kalilauge eingestellten pH-Wert von 7,4) wurde dann ein kurz andauernder, schnellerer Abfall der Sauerstoffkonzentration registriert. Er entspricht dem beschriebenen "aktiven Status" einer Zelle, der sich aus der durch die einsetzende Phosphorylierung von ADP bedingten maximalen Aktivität der Atmung ergibt. Nach Erschöpfung des zugegebenen ADP stellt sich wie-

der der kontrollierte Zustand ein. Dieser Vorgang wurde bei jeder Messung mehrmals bis zum vollständigen Verbrauch des gelösten Sauerstoffs (entsprechend der Null-Linie der Eichkurve, siehe Abb. 9) durchgeführt, um einen hinreichend genauen Mittelwert für den RCI, beziehungsweise P/O-Quotienten der jeweiligen Mitochondrienlösung aus den einzelnen Kurvenabschnitten berechnen zu können (Abb. 10).

2.5 Auswertung

Ermittlung des Atmungskontrollindex (RCI)

Der RCI ergibt sich aus dem Verhältnis der Atmungsgeschwindigkeiten in Gegenwart von ADP und nach Verbrauch des ADP, bezogen auf einen Proteingehalt der Lösung von 1 mg. Angegeben wurde die Atmungsgeschwindigkeit in $\mu\text{Atom Sauerstoff pro Minute}$. Der Proteingehalt wurde nach der Biuret-Methode (Merckotest, Fa. Merck) bestimmt. Zur Ermittlung der jeweiligen Atmungsgeschwindigkeiten wurden Tangenten an die entsprechenden Kurvenabschnitte (Abb. 10) angelegt und der jeweilige Sauerstoffverbrauch mit dem dazugehörigen Zeitabschnitt aus den Angaben der Eichkurve (Abb. 9) berechnet (Tab. 1). Der RCI als Quotient beider Atmungsgeschwindigkeiten wurde für die einzelnen Kurvenabschnitte einer Messung wie in Tabelle 1 dargestellt ermittelt. Grundlage für die weitere Auswertung war jeweils der Mittelwert aus den einzelnen Atmungskontrollkoeffizienten einer Kurve. Hierdurch konnten Unregelmäßigkeiten bei der Ermittlung des RCI ausgeglichen werden, die beispielsweise durch die Auswertungsmethodik (Subjektives Verfahren beim Anlegen der Tangenten an die Kurvenabschnitte und der Ermittlung der Länge) bedingt sind.

Ermittlung des P/O - Quotienten

Der P/O-Quotient ergibt sich aus dem Verhältnis der Phosphat-Konzentration nach ADP-Zugabe und dem entsprechenden Sauerstoffverbrauch. Auch

<u>1</u>	<u>RCI</u>
1.1	Proteingehalt der gemessenen Mitochondriensuspension : 17,76 mg/ml
1.2	Daten aus der Eichkurve (siehe Abb. 9)
1.2.1	Papiervorschub - Geschwindigkeit: 3 cm/min
1.2.2.	Meßbereich (480 µAtom Sauerstoff) : 231 mm
1.3	<u>Atmungsrate in Gegenwart von ADP</u>
1.3.1	Sauerstoffverbrauch (480 µAtom · 15 mm) : 231 mm = 31,2 µAtom
1.3.2	Geschwindigkeit (60 sec · 7 mm) : 30 mm = 14 sec
1.3.3	Atmungsrate, bezogen auf 60 sec und 1 mg/ml Protein ((60 sec · 31,2 µAtom) : 14 sec) : 17.76 mg/ml $\hat{=}$ 7,53 µA/mg/min
1.4	<u>Atmungsrate ohne ADP (analog 1.3)</u>
1.4.1	Sauerstoffverbrauch: 39,48 µAtom
1.4.2	Geschwindigkeit: 32 sec
1.4.3	Atmungsrate: 4,17 µAtom/mg/min
1.5	<u>RCI</u> : 7,53 µA/mg/min : 4,17 µA/mg/min = <u>1,81</u>
<u>2</u>	<u>P/O - Quotient</u>
2.1	<u>Phosphatkonzentration</u>
2.1.1	Entsprechendes Gesamtvolumen 1050 µl (Medium) + 50 µl (Mitochondriensuspension) + 15 µl (Glutamat/Malat) + 4µl (ADP) = 1119 µl
2.1.2	Zugegebene ADP-Menge 2 µl 20 mM ADP
2.1.3	ADP-Konzentration (20 · 10 ³ µM · 2 µl) : 1119 µl = 35,75 µM
2.2	<u>Sauerstoffverbrauch (aus 1.3.1)</u> : 31,2 µAtom
2.3	<u>P/O - Quotient</u> 35,75 µM ADP : 31,2 µAtom = <u>1,15</u>

Tab. 1

Berechnungsbeispiel für RCI und P/O - Quotienten

Ausgewertet wurde der zweite Kurvenabschnitt von Abbildung 10

hier war jeweils der Mittelwert aus den einzelnen P/O-Quotienten einer Kurve Grundlage für die weitere Auswertung (Berechnungsbeispiel Tab. 1).

Statistische Auswertung

Um statistisch verwertbare Ergebnisse zu erhalten, wurden die Versuchsreihen mehrmals, mindestens jedoch fünfmal wiederholt (siehe Tabellen zu Abschnitt 3). Die vorliegenden Ergebnisse können sich so auf die Auswertung von nahezu 350 einzelnen Atmungskurven stützen, wobei jeweils der Mittelwert aus den Einzeldaten von den im Mittel fünf Kurvenabschnitten einer Atmungskurve Grundlage der Auswertung war.

Zur Klärung der Signifikanz zwischen den einzelnen Versuchsbedingungen vorliegender Unterschiede im Verhalten des RCI, beziehungsweise des P/O-Quotienten wurde der FRIEDMANN-Test (34) durchgeführt. Als Homogenitätstest überprüft er, ob die einzelnen Versuchsbedingungen, also die verschiedenen Konzentrationsbereiche, sich in ihrer Wirkung voneinander unterscheiden. Ergänzend hierzu wurde der multiple Vergleich der einzelnen Versuchsbedingungen nach WILCOXON und WILCOX (34) durchgeführt, um feststellen zu können, welche Bedingungen untereinander signifikante Unterschiede aufweisen. Der jeweils erhaltene Chi-Quadrat-Wert des FRIEDMANN-Testes und - soweit relevant - die entsprechende Rangdifferenz des WILCOXON-WILCOX-Testes werden bei der folgenden Darstellung der Ergebnisse angegeben und dem entsprechenden Tabellenwert gegenübergestellt. Falls dieser kleiner ist als der errechnete Wert, ist das in der gewählten Tabelle gegebene Signifikanzniveau (Irrtumswahrscheinlichkeit P) erreicht.

Darstellungsweise

Im folgenden wird für jede Versuchsbedingung die mittlere prozentuale Abweichung des RCI, beziehungsweise P/O-Quotienten gegenüber dem jeweiligen Ausgangswert ("relative Veränderungen") unter Berücksichtigung der Standardabweichung dargestellt. Erläuternd hierzu zeigt eine weitere graphische Darstellung die entsprechenden mittleren absoluten Werte des RCI, beziehungsweise P/O-Quotienten ("absolute Veränderungen"), wobei hier auf eine Einbeziehung der Standardabweichung zugunsten einer übersichtlichen Darstellung verzichtet wurde, zumal diese ohnehin aus der ersten graphischen Darstellung hervorgeht. Den Abschluß bildet eine Würdigung der dargestellten Ergebnisse im Hinblick auf die Resultate der statistischen Auswertung. Alle Einzeldaten sind aus der jeweils folgenden Tabelle ersichtlich.

3.1 Inkubation der Mitochondrien

3.1.1 Messung des RCI

3.1.1.1 Inkubation mit Fenoterol (Tab. 2)

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Fenoterol - Konzentrationen (N = 10)

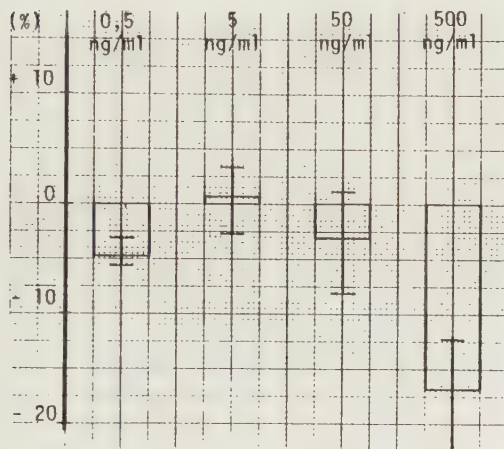


Abb. 11

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

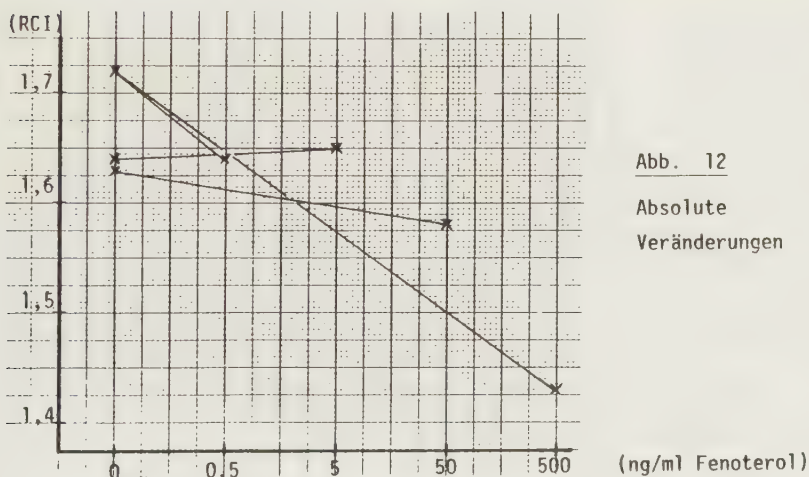


Abb. 12

Absolute
Veränderungen

Die Wirkung der vier Konzentrationsbereiche auf den RCI ist signifikant unterschiedlich ($P = 1\%$). Eine deutliche Verschlechterung des RCI ergibt sich gegenüber 0 ng/ml Fenoterol mit - 16,9% bei 500 ng/ml ($P = 5\%$) und gegenüber 5 ng/ml mit - 17,5 % bei 500 ng/ml ($P = 5\%$).

Fenoterol (ng/ml) (K)	0 (1)	0,5 (2)	5 (3)	50 (4)	500 (5)
Versuchsansatz Nr. (N)					
1	1,45	1,43	1,55	1,39	1,06
2	1,50	1,32	1,33	1,33	1,12
3	1,72	1,76	1,92	2,14	1,69
4	1,58	1,61	1,69	1,52	1,19
5	1,84	1,73	1,80	1,69	1,43
6	1,80	-	-	-	1,50
7	1,53	-	-	1,41	-
8	2,09	1,78	-	-	-
9	1,64	-	1,60	-	-
10	1,66	-	-	-	1,46
11	1,57	-	-	1,64	-
12	1,77	-	1,60	-	-
13	1,85	1,73	-	-	-
14	1,78	-	-	-	1,64
15	1,60	-	-	1,64	-
16	1,85	-	1,97	-	-
17	1,95	1,90	-	-	-
18	2,23	-	-	-	1,90
19	1,98	-	-	1,66	-
20	1,61	-	1,48	-	-
21	1,67	1,67	-	-	-
22	1,65	-	-	-	1,31
23	1,51	-	-	1,37	-
24	1,47	-	1,60	-	-
25	1,55	1,49	-	-	-
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 25	1,71 (+ 0,20)				
1-5,8,13,17,21,25	1,72 (+ 0,21)	1,64 (+ 0,18)			
1-5,9,12,16,20,24	1,64 (+ 0,15)		1,65 (+ 0,20)		
1-5,7,11,15,19,23	1,63 (+ 0,17)			1,58 (+ 0,24)	
1-5,6,10,14,18,22	1,72 (+ 0,22)				1,43 (+ 0,27)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Fenoterol)		- 4,7%	+ 0,6%	- 3,1%	- 16,9%
+ Standardabweichung (%)		- 5,7	+ 3,4	+ 1,1	- 12,4
- Standardabweichung (%)		- 3,3	- 2,7	- 8,2	- 22,7
(N = 10)					

Statistische Auswertung (N = 6, K = 5, getestet 1 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 13,88 (>11,75 für P = 1%)

Wilcoxon u. Wilcox: relevante Rangdifferenzen:

0 ng/ml - 500 ng/ml: 17 (>14,9 für P = 5%)

5 ng/ml - 500 ng/ml: 17,5 (>14,9 für P = 5%)

Tab. 2

RCI-Werte von 25 Versuchsansätzen bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Konzentrationen von Fenoterol in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Fenoterol).

3.1.1.2 Inkubation mit Verapamil (Tab. 3)

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen (N = 11 für 20 ng/ml, N = 14 für 200 ng/ml, N = 13 für 2000 ng/ml)

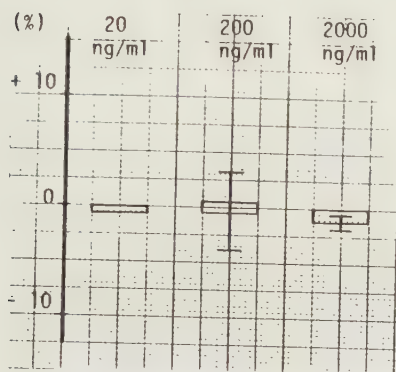


Abb. 13

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

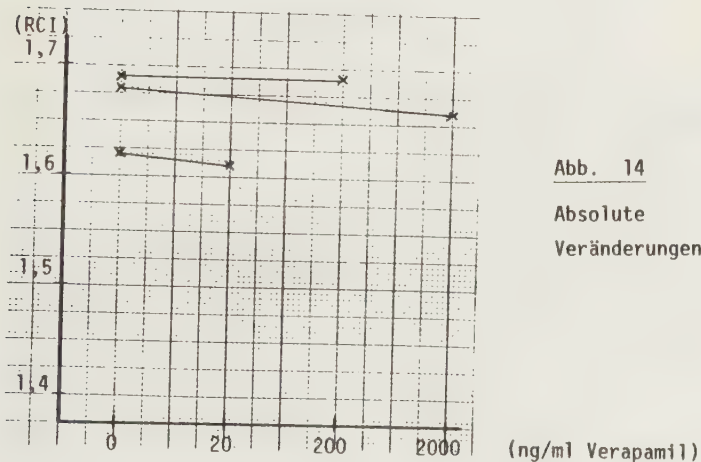


Abb. 14

Absolute
Veränderungen

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den RCI weist keine signifikanten Unterschiede auf.

Verapamil (ng/ml) (K)	0 (1)	20 (2)	200 (3)	2000 (4)
Versuchsansätze Nr. (N)				
1 (1)	1,45	1,48	-	-
2 (2)	1,50	-	1,41	1,43
3 (3)	1,72	-	1,82	1,59
4 (4)	1,58	1,55	1,58	1,66
5 (5)	1,84	-	2,02	1,81
6 (6)	1,80	-	1,75	1,82
7 (7)	1,53	1,54	-	-
8 (8)	1,64	1,80	-	-
9 (10)	1,66	-	-	1,71
10 (11)	1,57	-	1,43	-
11 (13)	1,85	1,72	1,64	-
12 (16)	1,85	1,72	1,84	1,76
13 (17)	1,95	-	2,14	1,94
14 (20)	1,61	1,72	1,58	1,51
15 (21)	1,67	1,61	1,69	1,60
16 (22)	1,65	1,68	1,72	1,69
17 (23)	1,51	-	1,53	1,48
18 (24)	1,47	1,43	-	-
19 (25)	1,55	1,42	1,49	1,57
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)				
1,4,7,8,11,12,14-16, 18,19	1,62 (+ 0,13)	1,61 (+ 0,13)		
2-6,10-17,19	1,69 (+ 0,15)		1,69 (+ 0,21)	
2-6,9,12-17,19	1,68 (+ 0,14)			1,66 (+ 0,15)
Veränderungen gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Verapamil)		- 0,6%	+ 0%	- 1,2%
+ Standardabweichung (%)		- 0,6	+ 3,3	- 0,5
- Standardabweichung (%)		- 0,7	- 3,9	- 1,9
		(N=11)	(N=14)	(N=13)

Statistische Auswertung (N = 6, K = 4, getestet 1 - 4)

Friedmann: Chi-Quadrat: 3,4 (< 7,6 für P = 5%)

Tab. 3

RCI-Werte von 19 Versuchsansätzen (Versuchsansatz-Nr. von 3.1.1.1, Tab.2 in Klammern angegeben) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Konzentrationen von Verapamil in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Verapamil).

3.1.1.3 Inkubation mit 0,5 ng/ml Fenoterol und Verapamil (Tab. 4)

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml, bzw. 0,5 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 0,5 ng/ml Fenoterol (N = 5)

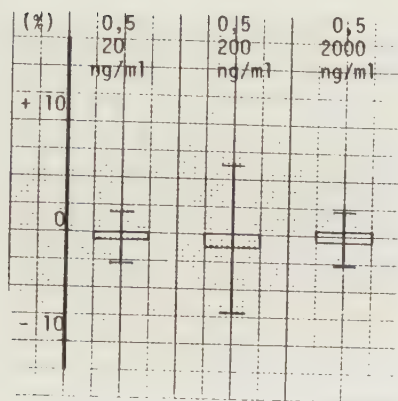


Abb. 15

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0,5 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

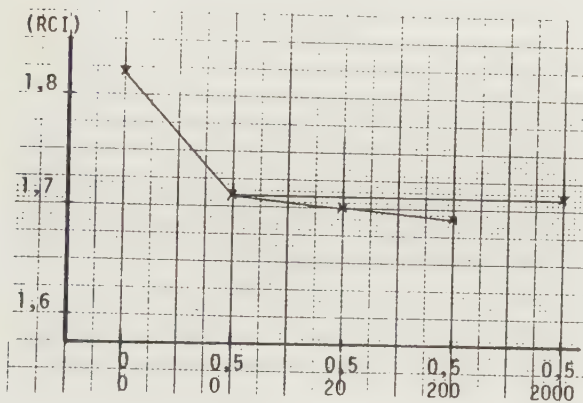


Abb. 16

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Fenoterol)
(ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den RCI weist keine signifikanten Unterschiede auf.

Fenoterol (ng/ml) + Verapamil (ng/ml) + (K)	0 0 (1)	0,5 + 0 (2)	0,5 + 20 (3)	0,5 + 200 (4)	0,5 + 2000 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (8)	2,09	1,78	1,82	2,06	2,01
2 (13)	1,85	1,73	1,79	1,60	1,69
3 (17)	1,95	1,90	1,72	1,76	1,72
4 (21)	1,67	1,67	1,54	1,64	1,66
5 (25)	1,55	1,49	1,64	1,40	1,49
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,82 (+ 0,22)	1,71 (+ 0,15)	1,70 (+ 0,11)	1,69 (+ 0,24)	1,71 (+ 0,19)
Veränderung gegenüber Ausgangswert (0,5 ng/ml Fenoterol)			- 0,6%	- 1,2%	0%
+ Standardabweichung (%)			- 2,7	+ 3,8	+ 2,2
- Standardabweichung (%)			+ 1,9	- 7,1	- 2,6
			(N = 5)		

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 2-5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 0,81 (< 7,8 für P = 5%)

Tab. 4

RCI-Werte von 5 Versuchsansätzen (Versuchsansatz-Nr. von 3.1.1.1, Tab. 2 in Klammern angegeben) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 0,5 ng/ml Fenoterol.

3.1.1.4 Inkubation mit 5 ng/ml Fenoterol und Verapamil (Tab. 5)

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml, bzw. 5 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 5 ng/ml Fenoterol (N = 5)

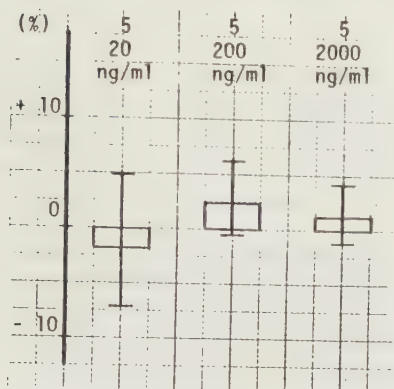


Abb. 17

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
5 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

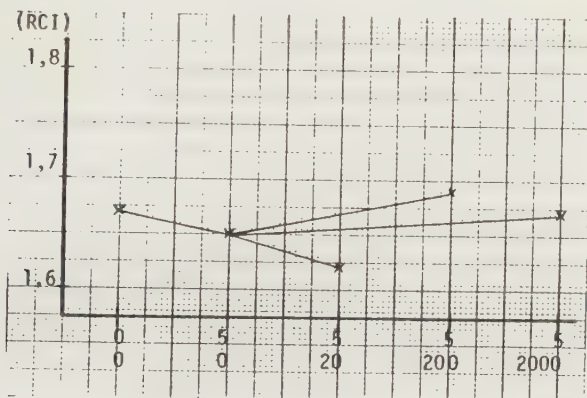


Abb. 18

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Fenoterol)
(ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den RCI weist keine signifikanten Unterschiede auf.

Fenoterol (ng/ml) + Verapamil (ng/ml) (K)	0 0 (1)	5 + 0 (2)	5 + 20 (3)	5 + 200 (4)	5 + 2000 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (9)	1,64	1,60	1,51	1,77	1,61
2 (12)	1,77	1,60	1,70	1,73	1,72
3 (16)	1,85	1,97	1,72	1,85	1,90
4 (20)	1,61	1,48	1,54	1,55	1,54
5 (24)	1,47	1,60	1,65	1,54	1,56
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,67 (+ 0,15)	1,65 (+ 0,19)	1,62 (+ 0,09)	1,69 (+ 0,14)	1,67 (+ 0,15)
Veränderung gegenüber Ausgangswert (5 ng/ml Fenoterol)			- 1,8%	+ 2,4%	+ 1,2%
+ Standardabweichung (%)			- 7,1	- 0,5	- 1,1
- Standardabweichung (%)			+ 4,8	+ 6,2	+ 4,1
			(N = 5)		

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 2 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 1,65 (<7,8 für P = 5%)

Tab. 5

RCI-Werte von 5 Versuchsansätzen (Versuchsansatz-Nr. von 3.1.1.1, Tab. 2 in Klammern angegeben) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 5 ng/ml Fenoterol.

3.1.1.5 Inkubation mit 50 ng/ml Fenoterol und Verapamil (Tab. 6)

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml, bzw. 50 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 50 ng/ml Fenoterol (N = 5)

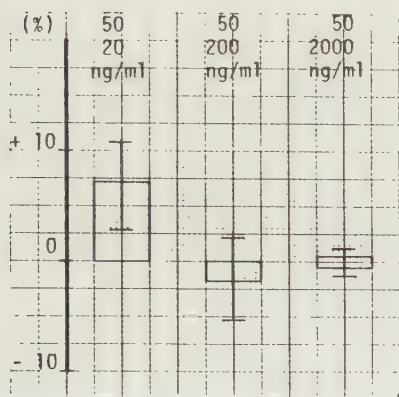


Abb. 19

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
50 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

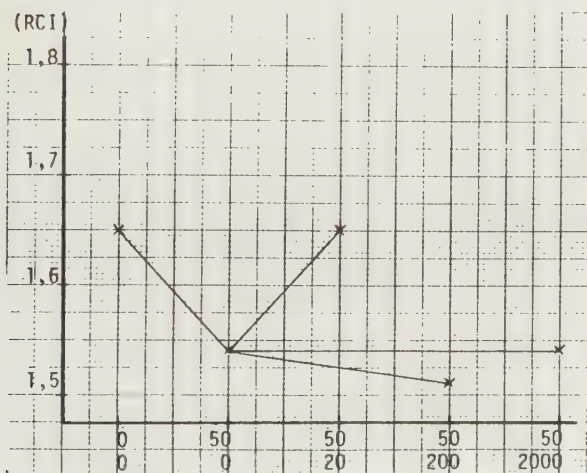


Abb. 20

Absolute
Veränderungen

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den RCI weist keine signifikanten Unterschiede auf.

Fenoterol (ng/ml) + Verapamil (ng/ml) (K)	0 0 (1)	50 + 0 (2)	50 + 20 (3)	50 + 200 (4)	50 + 2000 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (7)	1,53	1,41	1,53	1,54	1,50
2 (11)	1,57	1,64	1,51	1,50	1,40
3 (15)	1,64	1,64	1,92	1,44	1,53
4 (19)	1,98	1,66	1,85	1,64	1,81
5 (23)	1,51	1,37	1,46	1,45	1,48
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,65 (+ 0,19)	1,54 (+ 0,14)	1,65 (+ 0,21)	1,51 (+ 0,08)	1,54 (+ 0,16)
Veränderung gegenüber Ausgangswert (50 ng/ml Fenoterol)			+ 7,1%	- 1,9%	+ 0%
+ Standardabweichung (%)			+ 10,7	- 5,4	+ 1,2
- Standardabweichung (%)			+ 2,9	+ 2,1	- 1,4
			(N = 5)		

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 2 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 3,48 (< 7,8 für P = 5%)

Tab. 6

RCI-Werte von 5 Versuchsansätzen (Versuchsansatz Nr. von 3.1.1.1, Tab. 2 in Klammern angegeben) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 50 ng/ml Fenoterol.

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml, bzw. 500 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 500 ng/ml Fenoterol (N = 5)

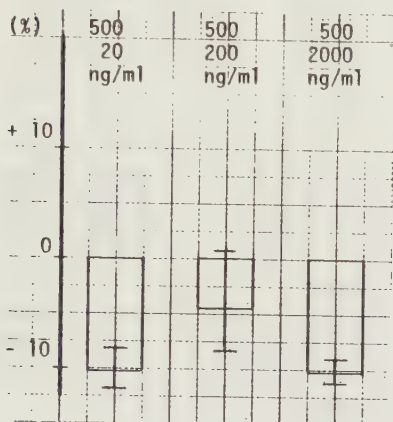


Abb. 21

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
500 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

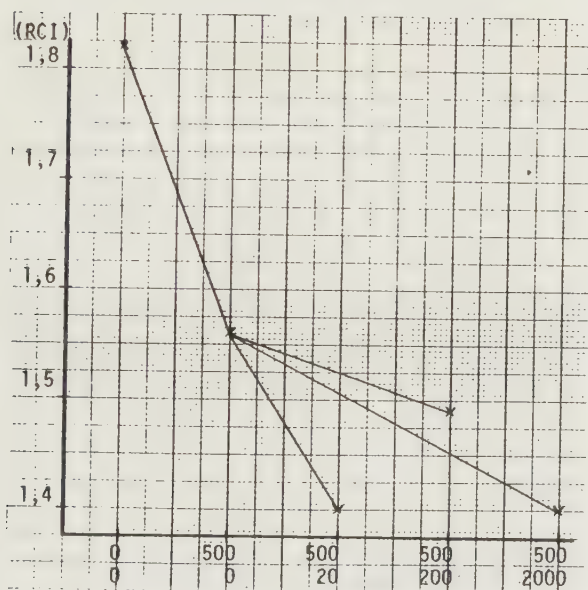


Abb. 22

Absolute
Veränderungen

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den RCI weist keine signifikanten Unterschiede auf.

Fenoterol (ng/ml) + Verapamil (ng/ml) (K)	0 0 (1)	500 + 0 (2)	500 + 20 (3)	500 + 200 (4)	500 + 2000 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (6)	1,80	1,50	1,40	1,41	1,16
2 (10)	1,66	1,46	1,31	1,36	1,26
3 (14)	1,78	1,64	1,20	1,61	1,51
4 (18)	2,23	1,90	1,65	1,67	1,56
5 (22)	1,65	1,31	1,45	1,38	1,51
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,82 (+ 0,24)	1,56 (+ 0,22)	1,40 (+ 0,17)	1,49 (+ 0,14)	1,40 (+ 0,18)
Veränderung gegenüber Ausgangswert (500 ng/ml Fenoterol)			- 10,3%	- 4,5%	- 10,3%
+ Standardabweichung (%)			- 11,8	- 8,4	- 11,2
- Standardabweichung (%)			- 8,2	+ 0,7	- 9
			(N = 5)		

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 2 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 4,92 (< 7,8 für P = 5%)

Tab. 7

RCI-Werte von 5 Versuchsansätzen (Versuchsansatz von 3.1.1.1, Tab. 2 in Klammern angegeben) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 500 ng/ml Fenoterol.

3.1.2 Messung des P/O-Quotienten

3.1.2.1 Inkubation mit Fenoterol (Tab. 8)

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Fenoterol-Konzentrationen (N = 10)

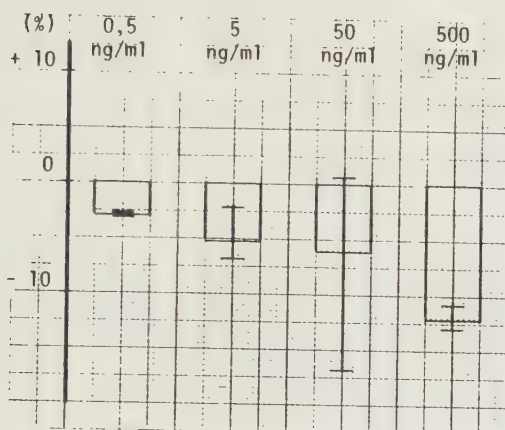


Abb. 23

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\pm$ 100 %)

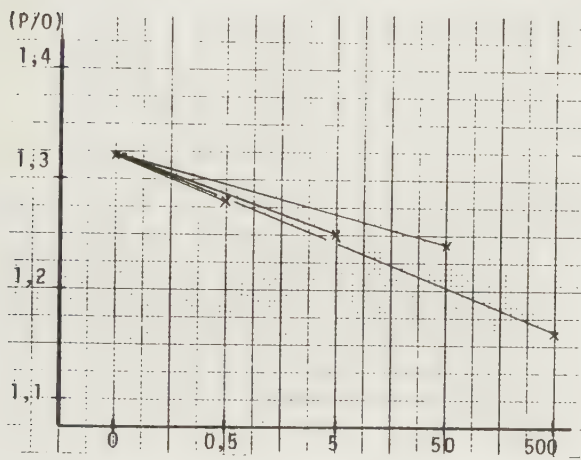


Abb. 24

Absolute
Veränderungen

Die Wirkung der vier Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

Fenoterol (ng/ml) (K)	0 (1)	0,5 (2)	5 (3)	50 (4)	500 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1	1,03	1,26	1,16	1,16	1,14
2	1,23	1,12	1,19	0,99	0,87
3	2,09	2,05	2,21	2,30	1,74
4	1,12	1,16	1,34	1,25	0,85
5	1,47	1,03	0,96	1,42	1,14
6	1,18	-	-	-	1,12
7	1,04	-	-	0,89	-
8	1,27	1,27	-	-	-
9	0,72	-	0,92	-	-
10	1,28	-	-	-	1,27
11	1,38	-	-	0,94	-
12	1,25	-	1,24	-	-
13	1,16	1,20	-	-	-
14	1,16	-	-	-	1,01
15	1,38	-	-	1,19	-
16	1,88	-	1,25	-	-
17	1,25	1,27	-	-	-
18	1,31	-	-	-	1,25
19	1,35	-	-	1,22	-
20	1,09	-	1,09	-	-
21	1,30	1,29	-	-	-
22	1,31	-	-	-	1,17
23	1,14	-	-	1,07	-
24	1,30	-	1,11	-	-
25	1,31	1,19	-	-	-
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1-5,8,13,17,21,25	1,32 (+ 0,29)	1,28 (+ 0,28)			
1-5,9,12,16,20,24	1,32 (+ 0,41)		1,25 (+ 0,36)		
1-5,7,11,15,19,23	1,32 (+ 0,31)			1,24 (+ 0,40)	
1-5,6,10,14,18,22	1,32 (+ 0,30)				1,16 (+ 0,25)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Fenoterol)		- 3%	- 5,3 %	- 6,1%	- 12,1%
+ Standardabweichung (%)		- 3,1	- 6,9	+ 0,6	- 13,0
- Standardabweichung (%)		- 2,9	- 2,2	- 16,8	- 10,8
(N = 10)					

Statistische Auswertung (N = 6, K = 5, getestet 1 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 4,27 (<9,1 für P = 5%)

Tab. 8

P/O-Quotienten von 25 Versuchsansätzen bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Konzentrationen von Fenoterol in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Fenoterol).

3.1.2.2. Inkubation mit Verapamil (Tab. 9)

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen (N = 11 für 20 ng/ml, N = 14 für 200 ng/ml, N = 13 für 2000 ng/ml)

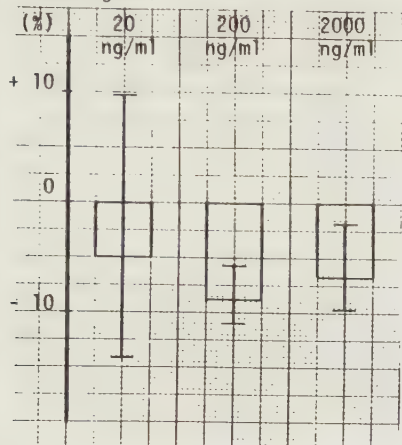


Abb. 25

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

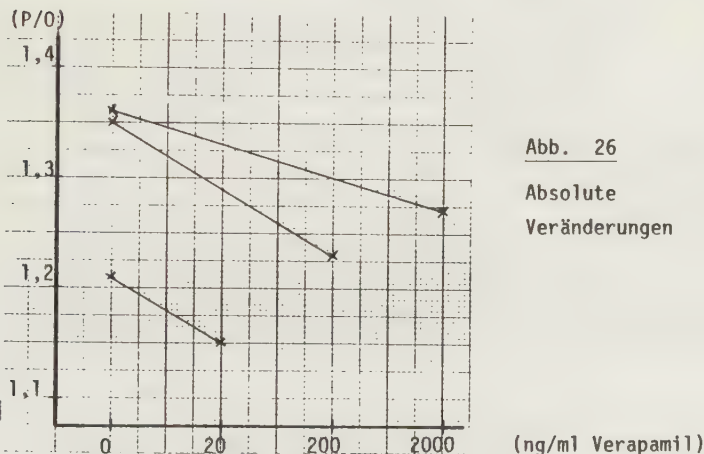


Abb. 26

Absolute
Veränderungen

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

Verapamil (ng/ml) (K)	0 (1)	20 (2)	200 (3)	2000 (4)
Versuchsansätze Nr. (N)				
1 (1)	1,03	1,23	-	-
2 (2)	1,23	-	1,30	1,11
3 (3)	2,09	-	1,79	1,69
4 (4)	1,12	1,11	1,11	1,03
5 (5)	1,47	-	1,41	1,74
6 (6)	1,18	-	1,19	1,23
7 (7)	1,04	0,96	-	-
8 (9)	0,72	1,00	-	-
9 (10)	1,28	-	-	1,12
10 (11)	1,38	-	1,11	-
11 (13)	1,16	1,12	1,06	-
12 (16)	1,88	1,02	0,77	1,20
13 (17)	1,25	-	1,30	1,24
14 (20)	1,09	1,06	1,11	0,99
15 (21)	1,30	1,38	1,36	1,36
16 (22)	1,31	1,24	1,27	1,37
17 (23)	1,14	-	1,17	1,20
18 (24)	1,30	1,27	-	-
19 (25)	1,31	1,21	1,30	1,22
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)				
1,4,7,8,11,12,14-16, 18,19	1,21 (+ 0,28)	1,15 (+ 0,13)		
2-6,10-17,19	1,35 (+ 0,29)		1,23 (+ 0,23)	
2-6,9,12-17,19	1,36 (+ 0,30)			1,27 (+ 0,23)
Veränderung gegenüber Ausgangswert (0 ng/ml Verapamil)				
		- 5%	- 8,9%	- 6,6%
+ Standardabweichung (%)		- 14,1	- 11,0	- 9,6
- Standardabweichung (%)		+ 9,7	- 5,7	- 1,9
		(N=11)	(N=14)	(N=13)

Statistische Auswertung (N = 6, K = 4, getestet 1 - 4)

Friedmann: Chi-Quadrat: 2,29 (< 7,6 für P = 5%)

Tab. 9

P/O-Quotienten von 19 Versuchsansätzen (Versuchsansatz-Nr. von 3.1.2.1, Tab. 8, in Klammern angegeben) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Konzentrationen von Verapamil in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Verapamil).

3.1 2.3 Inkubation mit 0.5 ng/ml Fenoterol und Verapamil (Tab.10)

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml, bzw. 0,5 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 0,5 ng/ml Fenoterol (N = 5)

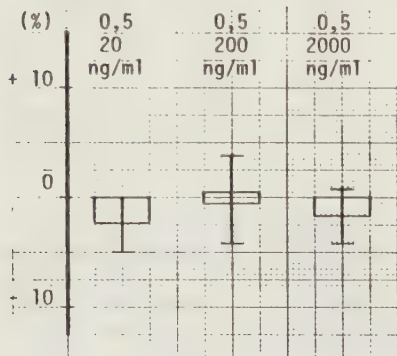


Abb. 27

Relative
Veränderungen
(Ausgangswert:
0,5 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

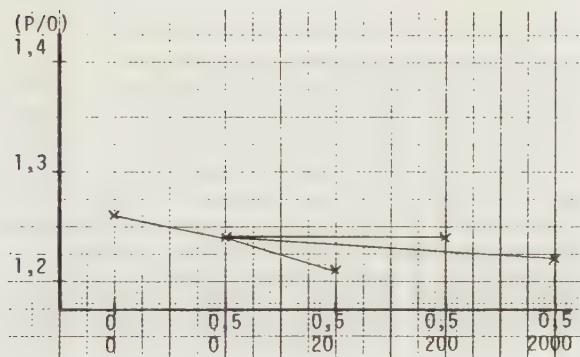


Abb. 28

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Fenoterol)
(ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

Fenoterol (ng/ml) + Verapamil (ng/ml) (K)	0 0 (1)	0,5 + 0 (2)	0,5 + 20 (3)	0,5 + 200 (4)	0,5 + 2000 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (8)	1,27	1,27	1,30	1,27	1,08
2 (13)	1,16	1,20	1,12	1,19	1,23
3 (17)	1,25	1,27	1,24	1,13	1,27
4 (21)	1,30	1,29	1,25	1,39	1,23
5 (25)	1,31	1,19	1,12	1,20	1,29
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,26 (+ 0,06)	1,24 (+ 0,05)	1,21 (+ 0,08)	1,24 (+ 0,10)	1,22 (+ 0,08)
Veränderung gegenüber Ausgangswert (0,5 ng/ml Fenoterol)			- 2,4%	+ 0%	- 1,6%
+ Standardabweichung (%)			+ 0	+ 3,9	+ 0,8
- Standardabweichung (%)			- 5	- 4,2	- 4,2
			(N = 5)		

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 2 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 1,19 (< 7,8 für P = 5%)

Tab. 10

P/O-Quotienten von 5 Versuchsansätzen (Versuchsansatz Nr. von 3.1.2.1, Tab. 8 in Klammern angegeben) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 0,5 ng/ml Fenoterol.

3.1.2.4 Inkubation mit 5 ng/ml Fenoterol und Verapamil (Tab. 11)

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml, bzw. 5 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 5 ng/ml Fenoterol (N = 5)

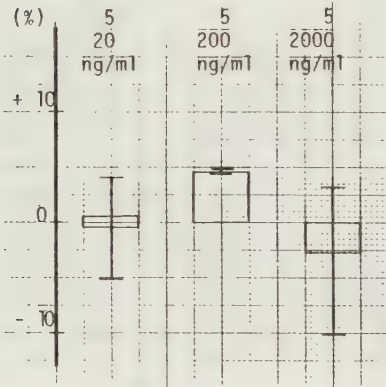


Abb. 29

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
5 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

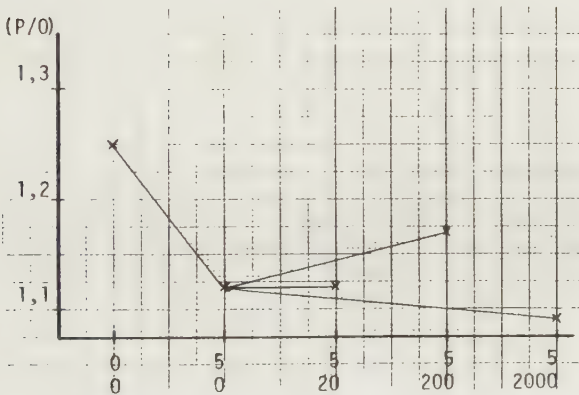


Abb. 30

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Fenoterol)
(ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

Fenoterol (ng/ml) + Verapamil (ng/ml) (K)	0 0 (1)	5 + 0 (2)	5 + 20 (3)	5 + 200 (4)	5 + 2000 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (9)	0,72	0,92	0,82	1,03	0,77
2 (12)	1,25	1,24	1,32	1,36	1,29
3 (16)	1,88	1,25	1,17	1,26	1,21
4 (20)	1,09	1,09	1,17	1,09	1,06
5 (24)	1,30	1,11	1,13	1,11	1,10
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,25 (+ 0,42)	1,12 (+ 0,13)	1,12 (+ 0,18)	1,17 (+ 0,14)	1,09 (+ 0,20)
Veränderung gegenüber Ausgangswert (5 ng/ml Fenoterol)			+ 0%	+ 4,5%	- 2,7%
+ Standardabweichung (%)			+ 4	+ 4,8	+ 3,2
- Standardabweichung (%)			- 5,1	+ 4,0	- 10,1
			(N = 5)		

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 2 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 6,63 (< 7,8 für P = 5%)

Tab. 11

P/O-Quotienten von 5 Versuchsansätzen (Versuchsansätze-Nr. von 3.1.2.1, Tab. 8 in Klammern angegeben) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 5 ng/ml Fenoterol.

3.1.2.5 Inkubation mit 50 ng/ml Fenoterol und Verapamil (Tab. 12)

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml, bzw. 50 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 50 ng/ml Fenoterol (N = 5)

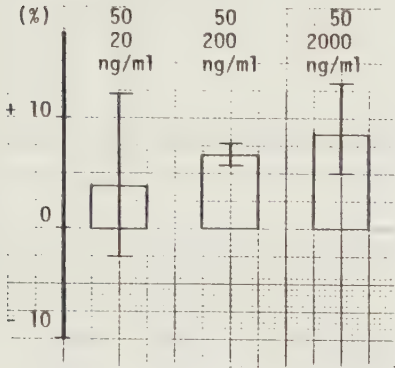


Abb 31
Relative
Veränderungen
(Ausgangswert:
50 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

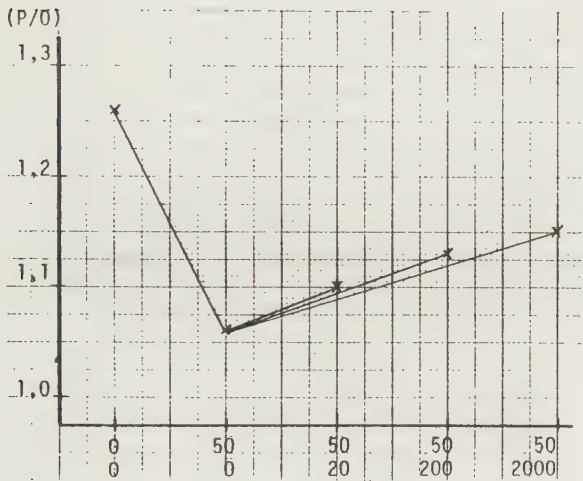


Abb. 32
Absolute
Veränderungen

(ng/ml Fenoterol)
(ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

Fenoterol (ng/ml) + Verapamil (ng/ml) (K)	0 0 (1)	50 + 0 (2)	50 + 20 (3)	50 + 200 (4)	50 + 2000 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (7)	1,04	0,89	1,02	0,99	1,03
2 (11)	1,38	0,94	1,08	1,12	1,07
3 (15)	1,38	1,19	1,24	1,27	1,29
4 (19)	1,35	1,22	1,09	1,29	1,26
5 (23)	1,14	1,07	1,06	0,98	1,12
Mittelwert aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,26 (+ 0,16)	1,06 (+ 0,15)	1,10 (+ 0,08)	1,13 (+ 0,15)	1,15 (+ 0,12)
Veränderung gegenüber Ausgangswert (50 ng/ml Fenoterol)			+ 3,8%	+ 6,6%	+ 8,5%
+ Standardabweichung (%)			- 2,5	+ 5,8	+ 5,0
- Standardabweichung (%)			+ 12,1	+ 7,7	+ 13,2
			(N = 5)		

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 2 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 5,4 (<7,8 für P = 5%)

Tab. 12

P/O-Quotienten von 5 Versuchsansätzen (Versuchsansatz-Nr. von 3.1.2.1., Tab 8 in Klammern angegeben) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 50 ng/ml Fenoterol.

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml, bzw. 500 ng/ml) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 500 ng/ml Fenoterol (N = 5)

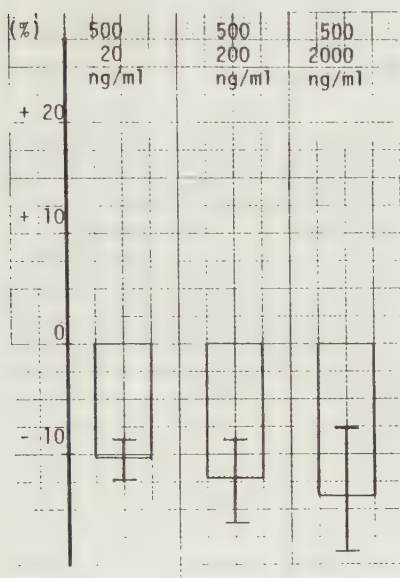


Abb. 33

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
500 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

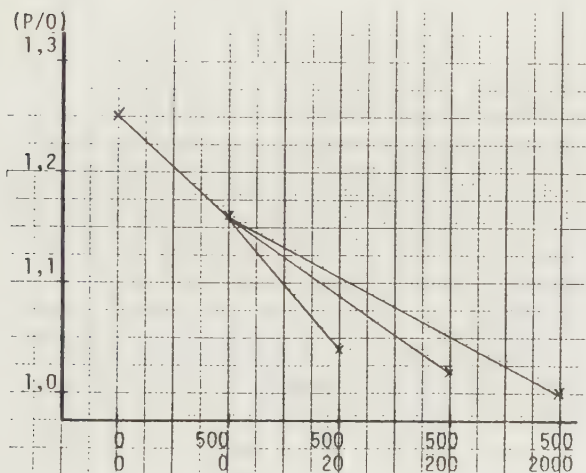


Abb. 34

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Fenoterol)
(ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

Fenoterol (ng/ml) + Verapamil (ng/ml) (K)	0 0 (1)	500 + 0 (2)	500 + 20 (3)	500 + 200 (4)	500 + 2000 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (6)	1,18	1,12	0,92	0,81	1,00
2 (10)	1,28	1,27	1,23	0,96	0,96
3 (14)	1,16	1,01	1,00	1,16	1,02
4 (18)	1,31	1,25	1,01	1,12	1,03
5 (22)	1,31	1,17	1,05	1,07	1,00
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,25 (+ 0,07)	1,16 (+ 0,11)	1,04 (+ 0,12)	1,02 (+ 0,14)	1,00 (+ 0,03)
Veränderung gegenüber Ausgangswert (500 ng/ml Fenoterol)			- 10,3%	- 12,1%	- 13,8%
+ Standardabweichung (%)			- 8,7	- 8,7	- 18,9
- Standardabweichung (%)			- 12,4	- 16,2	- 7,6
			(N = 5)		

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 2 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 5,58 (<7,8 für P = 5%)

Tab. 13

P/O-Quotienten von 5 Versuchsansätzen (Versuchsansatz-Nr. von 3.1.2.1, Tab. 8 in Klammern angegeben) bei Inkubation der Mitochondrien mit den angegebenen Verapamil-Konzentrationen in Kombination mit jeweils 500 ng/ml Fenoterol.

3.2 Inkubation des Herzgewebes

3.2.1 Messung des RCI

3.2.1.1 Inkubation mit 0,5 ng/ml Fenoterol, anschließende Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (Tab. 14)

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation des Herzgewebes mit 0,5 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (N = 5)

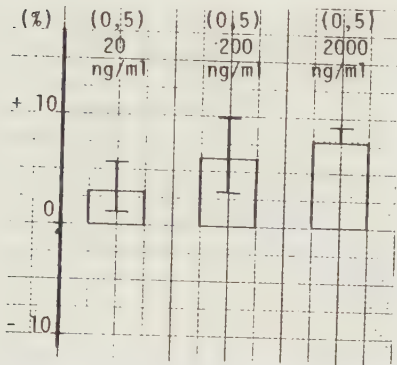


Abb. 35

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

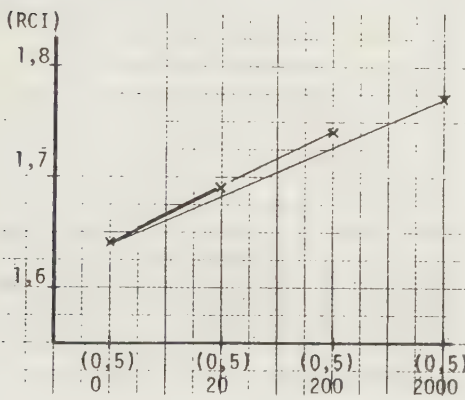


Abb. 36

Absolute
Veränderungen

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den RCI ist signifikant unterschiedlich ($P = 5\%$). Eine deutliche Verbesserung des RCI ergibt sich gegenüber 0 ng/ml Verapamil mit + 7,9% bei 2000 ng/ml ($P = 5\%$) und gegenüber 20 ng/ml Verapamil mit + 4,9% bei 2000 ng/ml ($P = 10\%$).

0,5 ng/ml Fenoterol + Verapamil (ng/ml) (K)	0 (1)	20 (2)	200 (3)	2000 (4)
Versuchsansätze Nr. (N)				
1 (4)	1,43	1,57	1,58	1,63
2 (11)	2,00	1,98	1,96	2,08
3 (15)	1,49	1,46	1,51	1,52
4 (21)	1,71	1,76	1,85	1,92
5 (27)	1,56	1,67	1,80	1,71
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)				
1 - 5	1,64 (+ 0,23)	1,69 (+ 0,20)	1,74 (+ 0,19)	1,77 (+ 0,23)
Veränderungen gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Verapamil)		+ 3%	+ 6,1%	+ 7,9%
+ Standardabweichung (%)		+ 1,1	+ 3,2	+ 7,9
- Standardabweichung (%)		+ 5,7	+ 9,9	+ 9,2
	(N = 5)			

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 1 - 4)

Friedmann: Chi-Quadrat: 9,24 (> 7,8 für P = 5%)

Wilcoxon u. Wilcox: relevante Rangdifferenzen

0,5 ng/ml - 0,5ng/ml + 2000 ng/ml: 11 (> 10,5 für P=5%)

0,5 ng/ml + 20 ng/ml - 0,5ng/ml + 2000ng/ml : 10
(> 9,4 für P=10%)

Tab. 14

RCI-Werte von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 0,5ng pro ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Verapamil).

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei
Inkubation des Herzgewebes mit 5 ng/ml Fenoterol und anschließender Zu-
gabe von Verapamil zu den Mitochondrien (N = 5)

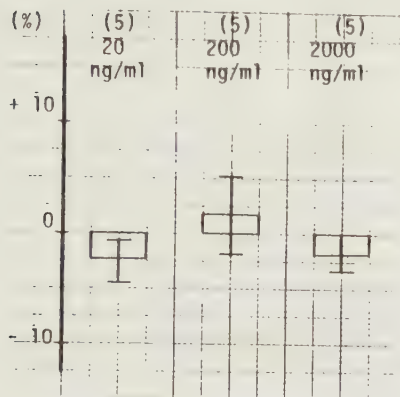


Abb. 37

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

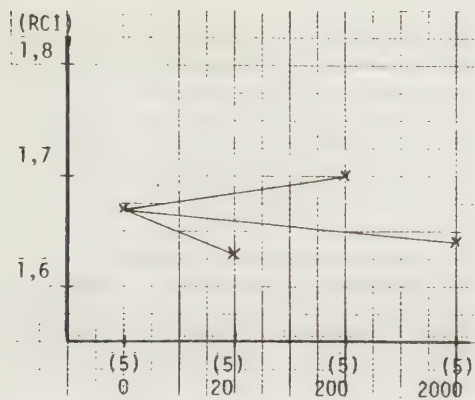


Abb. 38

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Fenoterol)
(ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den RCI weist keine
signifikanten Unterschiede auf.

5 ng/ml Fenoterol + Verapamil (ng/ml) (K)	0 (1)	20 (2)	200 (3)	2000 (4)
Versuchsansätze Nr. (N)				
1 (3)	1,58	1,40	1,47	1,51
2 (10)	1,74	1,75	1,70	1,68
3 (16)	1,53	1,60	1,63	1,61
4 (22)	1,77	1,72	1,91	1,72
5 (26)	1,75	1,67	1,80	1,68
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)				
1 - 5	1,67 (+ 0,11)	1,63 (+ 0,14)	1,70 (+ 0,17)	1,64 (+ 0,08)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Verapamil)		- 2,4%	+ 1,8%	- 1,8%
+ Standardabweichung (%)		- 0,6	+ 5,1	- 3,4
- Standardabweichung (%)		- 4,5	- 1,9	+ 0
		(N = 5)		

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 1 - 4)

Friedmann: Chi-Quadrat: 3,37 (< 7,8 für P = 5%)

Tab. 15

RCI-Werte von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 5 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Verapamil).

3.2.1.3 Inkubation mit 50 ng/ml Fenoterol, anschließend

Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (Tab. 16)

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation des Herzgewebes mit 50 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (N = 5)

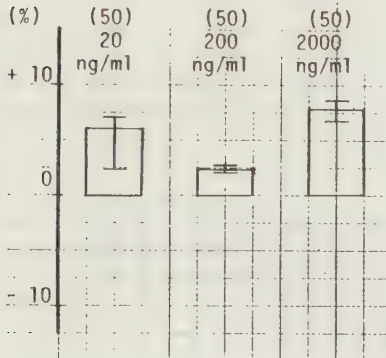


Abb. 39

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

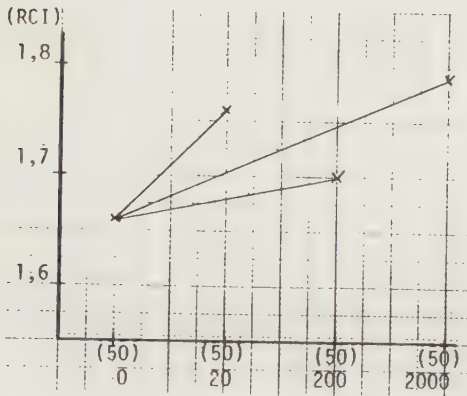


Abb. 40

Absolute
Veränderungen

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den RCI weist keine signifikanten Unterschiede auf.

50 ng/ml Fenoterol + Verapamil (ng/ml) (K)	0 (1)	20 (2)	200 (3)	2000 (4)
Versuchsansätze Nr. (N)				
1 (2)	1,54	1,55	1,54	1,56
2 (9)	1,53	1,72	1,53	1,93
3 (17)	1,51	1,55	1,63	1,59
4 (22)	1,82	1,95	1,83	1,80
5 (25)	1,92	2,01	1,98	2,06
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)				
1 - 5	1,66 ($\pm$ 0,19)	1,76 ($\pm$ 0,22)	1,70 ($\pm$ 0,20)	1,79 ($\pm$ 0,22)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Verapamil)		+ 6,0%	+ 2,4%	+ 7,8%
+ Standardabweichung (%)		+ 7,0	+ 2,7	+ 8,6
- Standardabweichung (%)		+ 4,8	+ 2,0	+ 6,8
	(N = 5)			

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 1 - 4)

Friedmann: Chi-Quadrat: 6,12 (< 7,8 für P = 5%)

Tab. 16

RCI-Werte von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 50 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Verapamil).

3.2.1.4 Inkubation mit 500 ng/ml Fenoterol, anschließend
 Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (Tab. 17)

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei
 Inkubation des Herzgewebes mit 500 ng/ml Fenoterol und anschließender
 Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (n = 5)

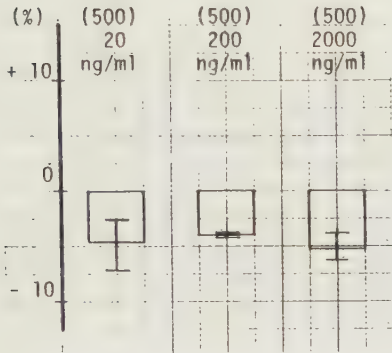


Abb. 41
 Relative
 Veränderungen
 (Ausgangswert:
 0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

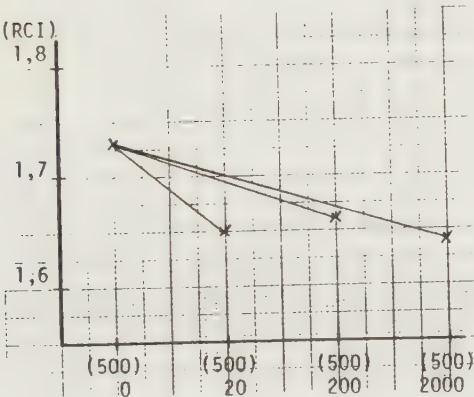


Abb. 42
 Absolute
 Veränderungen
 (ng/ml Fenoterol)
 (ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den RCI weist keine
 signifikanten Unterschiede auf.

500 ng/ml Fenoterol + Verapamil (ng/ml) (K)	0 (1)	20 (2)	200 (3)	2000 (4)
Versuchsansätze Nr. (N)				
1 (1)	1,55	1,41	1,48	1,53
2 (8)	1,80	1,69	1,82	1,66
3 (18)	1,51	1,45	1,49	1,44
4 (23)	1,82	1,72	1,64	1,85
5 (24)	1,97	1,96	1,88	1,72
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)				
1 - 5	1,73 (+ 0,19)	1,65 (+ 0,22)	1,66 (+ 0,18)	1,64 (+ 0,16)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Verapamil)		- 4,6%	- 4,0%	- 5,2%
+ Standardabweichung (%)		- 2,6	- 4,2	- 6,3
- Standardabweichung (%)		- 7,1	- 3,9	- 3,9
	(N = 5)			

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 1 - 4)

Friedmann: Chi-Quadrat: 5,16 (< 7,8 für P = 5%)

Tab. 17

RCI-Werte von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 500 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Verapamil).

3.2.1.5 Inkubation mit 20 ng/ml Verapamil, anschließend Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien (Tab. 18)

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation des Herzgewebes mit 20 ng/ml Verapamil und anschließender Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien (N = 5)

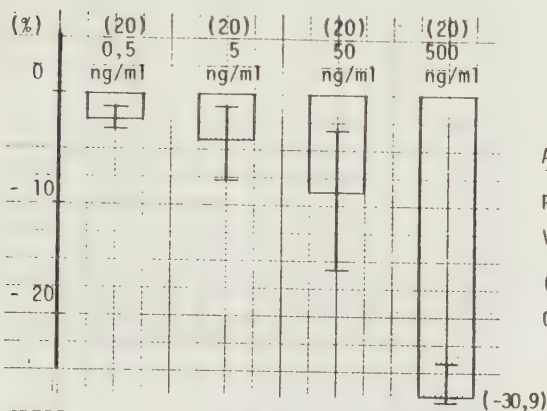


Abb. 43

Relative
Veränderungen
(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

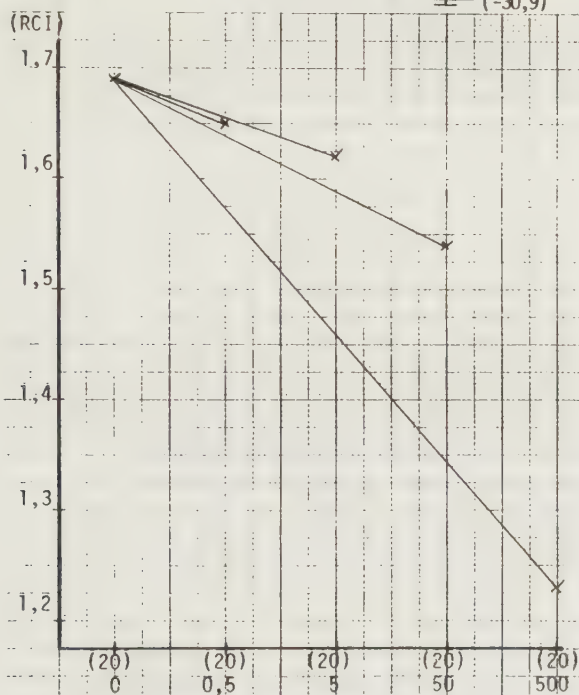


Abb. 44

Absolute
Veränderungen

Die Wirkung der vier Konzentrationsbereiche auf den RCI ist signifikant unterschiedlich ($P = 1\%$). Eine deutliche Verschlechterung des RCI ergibt sich gegenüber 0 ng/ml Fenoterol mit $- 27,2\%$ bei 500 ng/ml ($P=1\%$) und gegenüber 0,5 ng/ml Fenoterol mit $- 24,8\%$ bei 500 ng/ml ($P = 10\%$).

20 ng/ml Verapamil + Fenoterol (ng/ml) (K)	0 (1)	0,5 (2)	5 (3)	50 (4)	500 (5)
Versuchsansätze Nr.(N)					
1 (7)	1,62	1,56	1,58	1,58	1,22
2 (12)	1,94	1,87	1,98	1,87	0,99
3 (20)	1,58	1,59	1,53	1,43	1,30
4 (23)	1,78	1,73	1,64	1,64	1,47
5 (29)	1,54	1,50	1,38	1,18	1,16
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,69 (+ 0,17)	1,65 (+ 0,15)	1,62 (+ 0,22)	1,54 (+ 0,26)	1,23 (+ 0,18)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Fenoterol)		- 2,4%	- 4,1%	- 8,9%	- 27,2%
+ Standardabweichung (%)		- 3,2	- 1,1	- 3,2	- 24,2
- Standardabweichung (%)		- 1,3	- 7,9	- 15,8	- 30,9
	(N = 5)				

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 1 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 14,89 (>11,43 für P= 1%)

Wilcoxon u. Wilcox: relevante Rangdifferenzen:

20 ng/ml - 20ng/ml + 500 ng/ml : 18 (>16,3 für P=1%)

20 ng/ml + 0,5 ng/ml - 20 ng/ml + 500 ng/ml : 12,5

(>12,3 für P=10%)

Tab. 18

RCI-Werte von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 20 ng/ml Verapamil und anschließender Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Fenoterol).

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei
 Inkubation des Herzgewebes mit 200 ng/ml Verapamil und anschließender Zu-
 gabe von Fenoterol zu den Mitochondrien (n = 5)

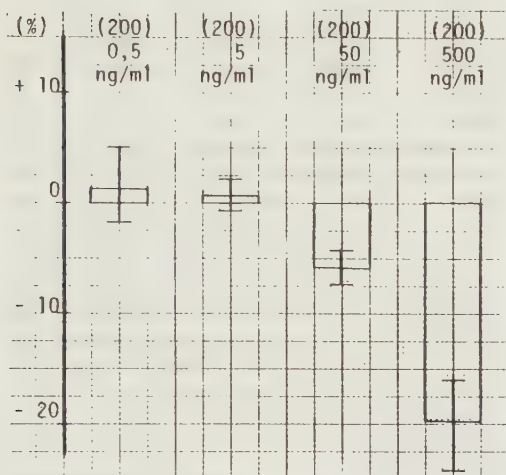


Abb. 45

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
 0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

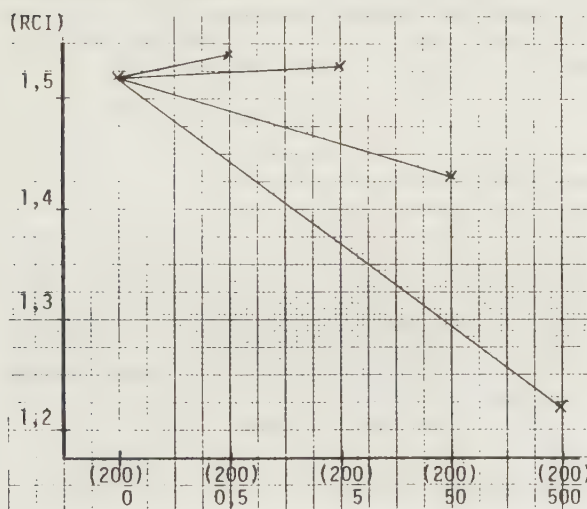


Abb. 46

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Verapamil)
 (ng/ml Fenoterol)

Die Wirkung der vier Konzentrationsbereiche auf den RCI ist signifikant unterschiedlich ($P = 1\%$). Eine deutliche Verschlechterung des RCI ergibt sich gegenüber 0 ng/ml Fenoterol mit -19,7% bei 500 ng/ml ($P = 5\%$), gegenüber 0,5 ng/ml mit -21% bei 500 ng/ml ($P = 5\%$) und gegenüber 5 ng/ml Fenoterol mit -20,4% bei 500 ng/ml ($P = 5\%$).

200 ng/ml Verapamil + Fenoterol (ng/ml) (K)	0 (1)	0,5 (2)	5 (3)	50 (4)	500 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (6)	1,42	1,53	1,58	1,36	1,17
2 (13)	1,64	1,57	1,58	1,45	1,20
3 (19)	1,48	1,61	1,55	1,51	1,29
4 (24)	1,64	1,54	1,56	1,48	1,42
5 (29)	1,43	1,46	1,37	1,33	1,02
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,52 (+ 0,11)	1,54 (+ 0,06)	1,53 (+ 0,09)	1,43 (+ 0,08)	1,22 (+ 0,15)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Fenoterol)		+ 1,3%	+ 0,7%	- 5,9%	- 19,7%
+ Standardabweichung (%)		- 1,8	- 0,6	- 7,4	- 16
- Standardabweichung (%)		+ 5	+ 2,1	- 4,3	- 24,1
	(N = 5)				

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 1 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 14,56 (> 11,43 für P= 1%)

Wilcoxon u. Wilcox: relevante Rangdifferenzen:

200 ng/ml - 200 ng/ml + 500 ng/ml: 14 (> 13,6 für P=5%)

200 ng/ml + 0,5 ng/ml - 200 ng/ml + 500 ng/ml: 15

: (> 13,6 für P=5%)

200 ng/ml + 5 ng/ml - 200 ng/ml + 500 ng/ml: 15

: (> 13,6 für P=5%)

Tab. 19

RCI-Werte von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 200 ng/ml Verapamil und anschließender Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Fenoterol).

3.2.1.7 Inkubation mit 2000 ng/ml Verapamil, anschließend Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien (Tab. 20)

Mittlere Veränderungen des RCI gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation des Herzgewebes mit 2000 ng/ml Verapamil und anschließender Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien (N = 5)

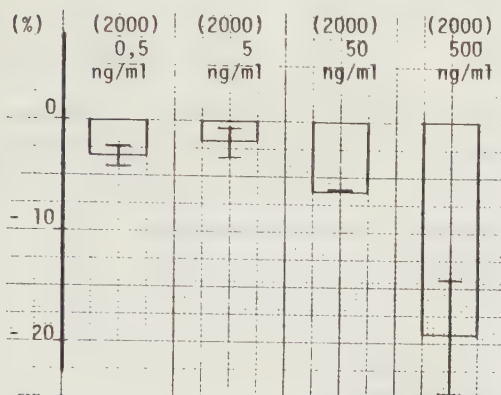


Abb. 47

Relative
Veränderungen
(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

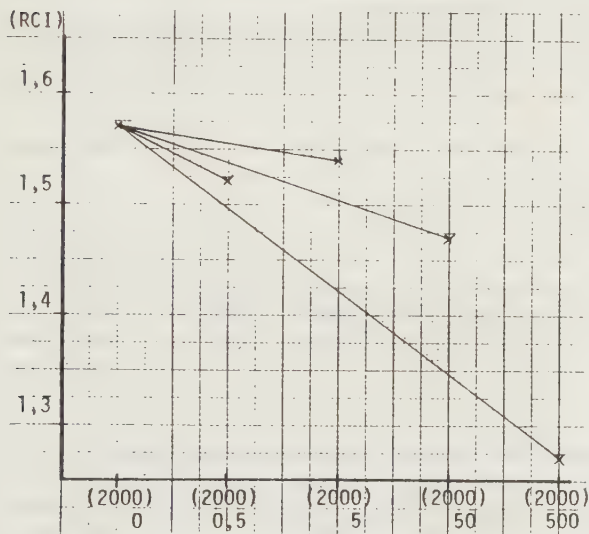


Abb. 48

Absolute
Veränderungen

Die Wirkung der vier Konzentrationsbereiche auf den RCI ist signifikant unterschiedlich ($P = 1\%$). Eine deutliche Verschlechterung des RCI ergibt sich gegenüber 0 ng/ml Fenoterol mit $-19,1\%$ bei 500 ng/ml ($P = 1\%$) und gegenüber 5 ng/ml Fenoterol mit -21% bei 500 ng/ml ($P = 5\%$).

2000 ng/ml Verapamil + Fenoterol (ng/ml) (K)	0 (1)	0,5 (2)	5 (3)	50 (4)	500 (5)
Versuchsansätze Nr.(N)					
1 (5)	1,68	1,58	1,47	1,51	1,37
2 (14)	1,68	1,70	1,72	1,60	1,25
3 (21)	1,51	1,40	1,47	1,45	1,25
4 (24)	1,52	1,52	1,64	1,49	1,46
5 (28)	1,45	1,42	1,42	1,32	1,01
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,57 (+ 0,11)	1,52 (+ 0,12)	1,54 (+ 0,13)	1,47 (+ 0,10)	1,27 (+ 0,17)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Fenoterol)		- 3,2%	- 1,9%	- 6,4%	- 19,1%
+ Standardabweichung (%)		- 2,4	- 0,6	- 6,5	- 14,3
- Standardabweichung (%)		- 4,1	- 3,4	- 6,2	- 24,7
	(N = 5)				

Statistische Auswertung (N = 5, K = 5, getestet 1 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 14,33 (>11,43 für P= 1%)

Wilcoxon u. Wilcox: relevante Rangdifferenzen:

2000 ng/ml - 2000 ng/ml + 500 ng/ml: 16,5 (>16,3 für P=1%)

2000 ng/ml + 5 ng/ml - 2000 ng/ml + 500 ng/ml: 14,5
(>13,6 für P=5%)

Tab. 20

RCI-Werte von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 2000 ng/ml Verapamil und anschließender Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Fenoterol).

3.2.2. Messung des P/O-Quotienten

3.2.2.1 Inkubation mit 0,5 ng/ml Fenoterol anschließend Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (Tab. 21)

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation des Herzgewebes mit 0,5 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (N = 5)

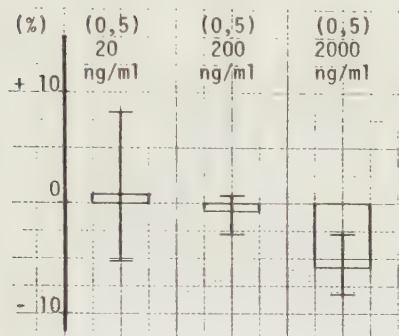


Abb. 49

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

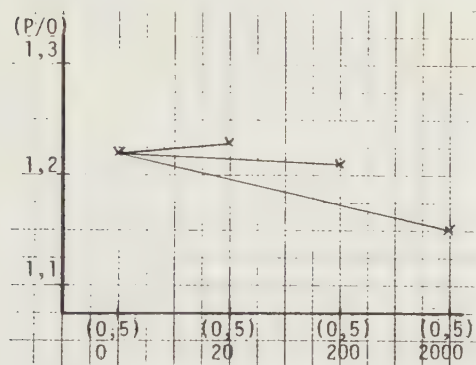


Abb. 50

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Fenoterol)
(ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf:

0,5 ng/ml Fenoterol + Verapamil (ng/ml) (K)	0 (1)	20 (2)	200 (3)	2000 (4)
Versuchsansätze Nr. (N)				
1 (4)	1,28	1,16	1,30	1,22
2 (11)	1,21	1,28	1,33	1,18
3 (15)	1,18	1,26	1,25	1,18
4 (22)	1,38	1,25	1,24	1,18
5 (28)	1,03	1,22	0,95	1,00
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)				
1 - 5	1,22 (+ 0,13)	1,23 (+ 0,05)	1,21 (+ 0,15)	1,15 (+ 0,09)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Verapamil)		+ 0,8%	- 0,8%	- 5,7%
+ Standardabweichung (%)		- 5,2	+ 0,7	- 8,1
- Standardabweichung (%)		+ 8,3	- 2,8	- 2,8
	(N = 5)			

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 1 - 4)

Friedmann: Chi-Quadrat: 3,63 (<7,8 für P=5%)

Tab. 21

P/O-Quotienten von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 0,5 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Verapamil).

3.2.2.2 Inkubation mit 5ng/ml Fenoterol, anschließend Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (Tab. 22)

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation des Herzgewebes mit 5 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (N = 5)

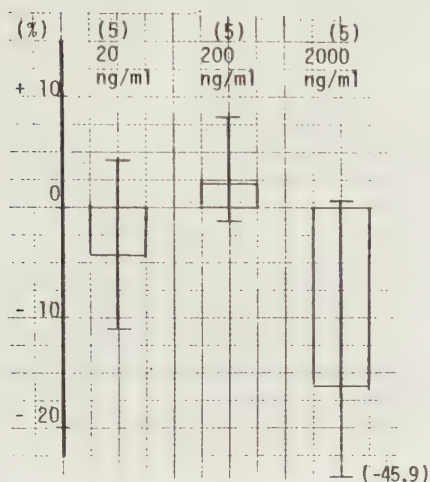


Abb. 51

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

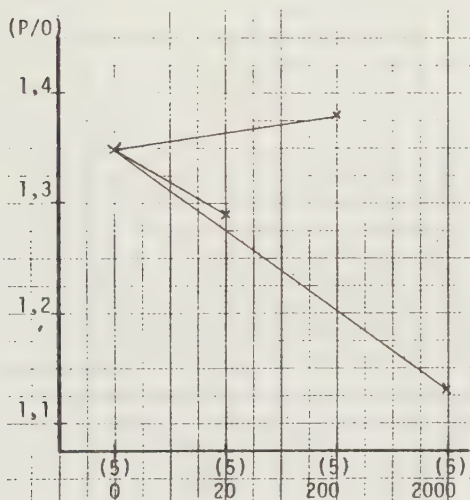


Abb. 52

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Fenoterol)
(ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

5 ng/ml Fenoterol + Verapamil (ng/ml) (K)	0 (1)	20 (2)	200 (3)	2000 (4)
Versuchsansätze Nr. (N)				
1 (3)	1,56	1,60	1,65	0,33
2 (10)	1,89	1,43	1,75	2,01
3 (16)	1,24	1,30	1,35	1,22
4 (23)	1,01	1,02	1,05	1,13
5 (27)	1,06	1,11	1,08	0,97
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)				
1 - 5	1,35 (+ 0,37)	1,29 (+ 0,24)	1,38 (+ 0,32)	1,13 (+ 0,60)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Verapamil)		- 4,4%	+ 2,2%	- 16,3%
+ Standardabweichung (%)		- 11	- 1,2	+ 0,6
- Standardabweichung (%)		+ 7,1	+ 8,2	- 45,9
		(N = 5)		

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 1 - 4)

Friedmann: Chi-Quadrat: 2.52 (< 7,8 für P = 5%)

Tab. 22

P/O-Quotienten von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 5 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Verapamil).

3.2.2.3 Inkubation mit 50 ng/ml Fenoterol, anschließend Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (Tab. 23)

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation des Herzgewebes mit 50 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (N = 5)

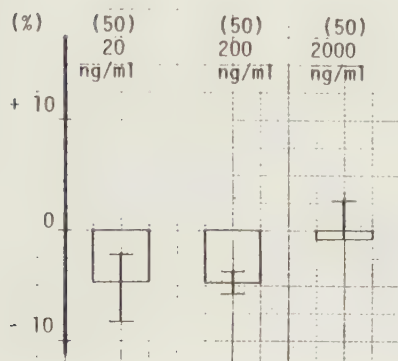


Abb. 53

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\triangleq$ 100%)

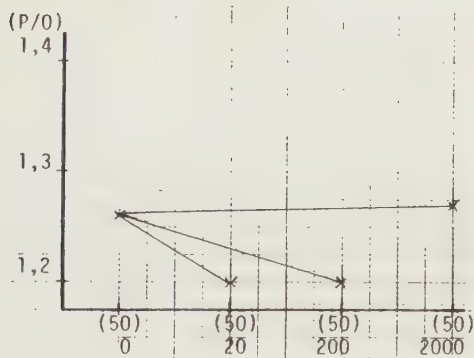


Abb. 54

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Fenoterol)
(ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

50 ng/ml Fenoterol + Verapamil (ng/ml) (K)	0 (1)	20 (2)	200 (3)	2000 (4)
Versuchsansätze Nr. (N)				
1 (2)	1,32	1,13	1,18	1,21
2 (9)	1,34	1,44	1,01	1,50
3 (17)	1,45	1,35	1,39	1,29
4 (23)	1,02	0,95	1,11	1,08
5 (26)	1,17	1,12	1,32	1,27
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)				
1 - 5	1,26 (+ 0,17)	1,20 (+ 0,20)	1,20 (+ 0,15)	1,27 (+ 0,15)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Verapamil)		- 4,8%	- 4,8%	- 0,8%
+ Standardabweichung (%)		- 2,1	- 5,6	- 0,7
- Standardabweichung (%)		- 8,3	- 3,7	+ 2,8
		(N = 5)		

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 1 - 4)

Friedmann: Chi-Quadrat: 3,24 (< 7,8 für P = 5%)

Tab 23

P/O-Quotienten von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 50 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Verapamil).

3.2.2.4 Inkubation mit 500 ng/ml Fenoterol, anschließend Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (Tab. 24)

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation des Herzgewebes mit 500 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien (N = 5)

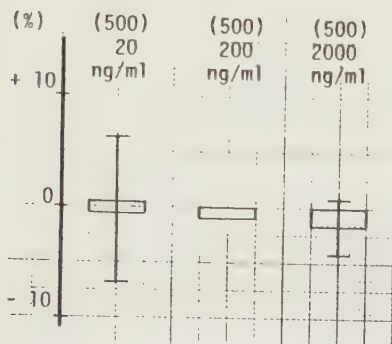


Abb. 55

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

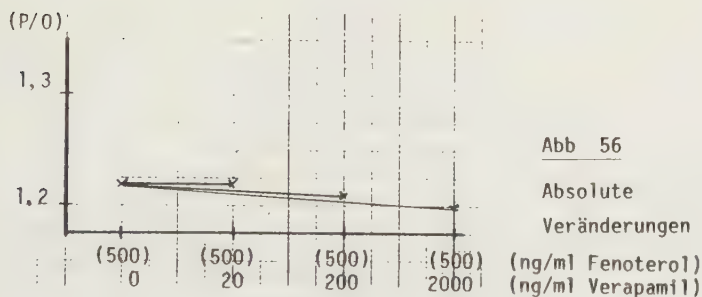


Abb. 56

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Fenoterol)
(ng/ml Verapamil)

Die Wirkung der drei Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

500 ng/ml Fenoterol + Verapamil (ng/ml) (K)	0 (1)	20 (2)	200 (3)	2000 (4)
Versuchsansätze Nr. (N)				
1 (1)	1,22	1,08	1,13	1,12
2 (8)	1,30	1,26	1,30	1,28
3 (18)	1,23	1,35	1,21	1,15
4 (24)	1,20	1,06	1,22	1,16
5 (25)	1,13	1,36	1,19	1,31
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)				
1 - 5	1,22 (+ 0,06)	1,22 (+ 0,14)	1,21 (+ 0,06)	1,20 (+ 0,09)
Veränderung gegenüber dem Ausgangs- wert (0 ng/ml Verapamil)		+ 0%	- 0,8%	- 1,6%
+ Standardabweichung (%)		+ 6,3	- 0,8	+ 0,8
- Standardabweichung (%)		- 6,9	- 0,9	- 4,3
	(N = 5)			

Statistische Auswertung (N = 5, K = 4, getestet 1 - 4)

Friedmann: Chi-Quadrat: 2,02 (< 7,8 für P = 5%)

Tab. 24

P/O-Quotienten von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 500 ng/ml Fenoterol und anschließender Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Verapamil).

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation des Herzgewebes mit 20 ng/ml Verapamil und anschließender Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien (N = 5)

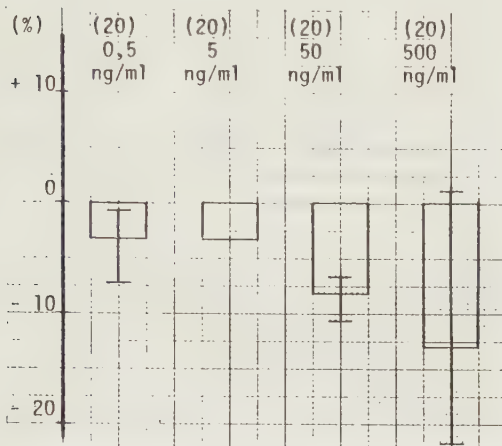


Abb. 57

Relative
Veränderungen
(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

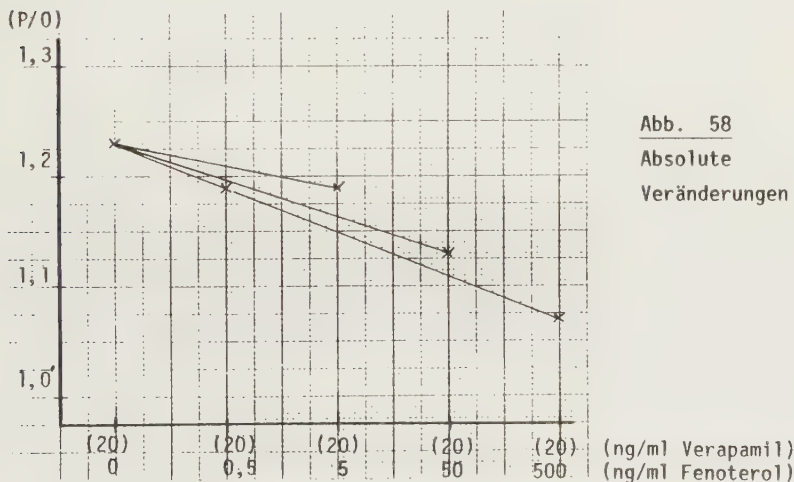


Abb. 58

Absolute
Veränderungen

Die Wirkung der vier Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

20 ng/ml Verapamil + Fenoterol (ng/ml) (K)	0 (1)	0,5 (2)	5 (3)	50 (4)	500 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (7)	1,23	0,89	1,11	1,08	0,90
2 (12)	1,69	1,72	1,61	1,58	1,18
3 (20)	1,02	1,25	1,18	1,00	1,01
4 (24)	1,27	1,05	1,24	1,17	1,18
5 (30)	0,93	0,94	0,82	0,81	1,08
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,23 (+ 0,29)	1,19 (+ 0,32)	1,19 (+ 0,28)	1,13 (+ 0,29)	1,07 (+ 0,12)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Fenoterol)		- 3,3%	- 3,3%	- 8,1%	- 13%
+ Standardabweichung (%)		- 0,7	- 3,3	- 6,6	- 21,7
- Standardabweichung (%)		- 7,4	- 3,2	- 10,6	+ 1,1
	(N = 5)				

Statistische Auswertung (N = 5, K = 5, getestet 1 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 7,52 (<8,99 für P= 5%)

Tab. 25

P/O-Quotienten von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 20 ng/ml Verapamil und anschließender Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Fenoterol).

3.2.2.6

Inkubation mit 200 ng/ml Verapamil, anschließend Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien (Tab. 26)

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation des Herzgewebes mit 200 ng/ml Verapamil und anschließender Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien (N = 5)

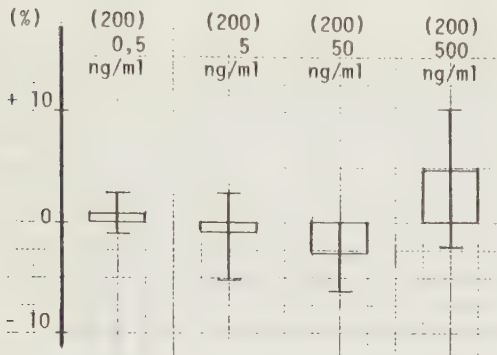


Abb. 59

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml Δ 100%)

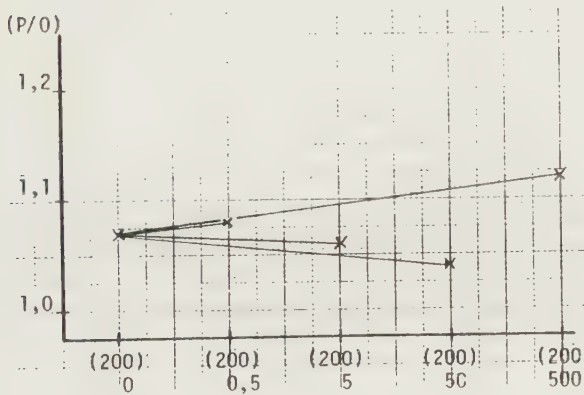


Abb. 60

Absolute
Veränderungen

(ng/ml Verapamil)
(ng/ml Fenoterol)

Die Wirkung der vier Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

200 ng/ml Verapamil + Fenoterol (ng/ml) (K)	0 (1)	0,5 (2)	5 (3)	50 (4)	500 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (6)	1,14	1,01	0,95	1,04	1,29
2 (13)	1,02	1,23	1,03	1,04	1,24
3 (19)	1,18	1,06	1,19	1,11	1,05
4 (25)	1,09	1,17	1,22	1,19	1,15
5 (30)	0,94	0,93	0,90	0,84	0,87
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,07 (+ 0,10)	1,08 (+ 0,12)	1,06 (+ 0,14)	1,04 (+ 0,13)	1,12 (+ 0,17)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Fenoterol)		+ 0,9%	- 0,9%	- 2,8%	+ 4,7%
+ Standardabweichung (%)		+ 2,6	+ 2,6	+ 0	+ 10,3
- Standardabweichung (%)		- 1,0	- 5,2	- 6,2	- 2,1
	(N = 5)				

Statistische Auswertung (N = 5, K = 5, getestet 1 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 0,16 (< 8,99 für P = 5%)

Tab. 26

P/O-Quotienten von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 200 ng/ml Verapamil und anschließender Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Fenoterol).

3.2.2.7 Inkubation mit 2000 ng/ml Verapamil, anschließend Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien (Tab. 27)

Mittlere Veränderungen des P/O-Quotienten gegenüber dem Ausgangswert (0 ng/ml) bei Inkubation des Herzgewebes mit 2000 ng/ml Verapamil und anschließender Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien (N = 5)

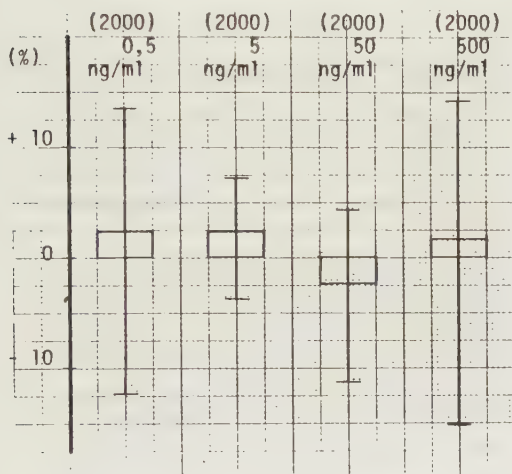


Abb. 61

Relative
Veränderungen

(Ausgangswert:
0 ng/ml $\hat{=}$ 100%)

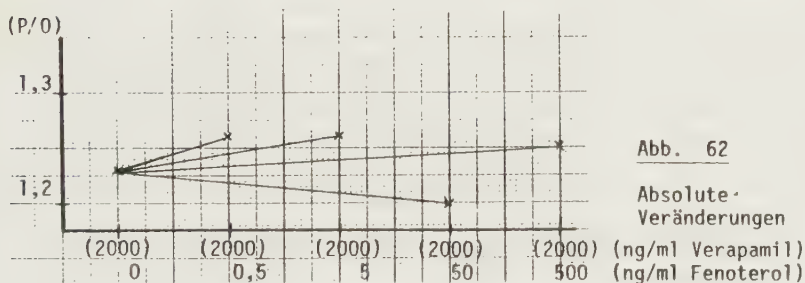


Abb. 62

Absolute-
Veränderungen

Die Wirkung der vier Konzentrationsbereiche auf den P/O-Quotienten weist keine signifikanten Unterschiede auf.

2000 ng/ml Verapamil + Fenoterol (ng/ml) (K)	0 (1)	0,5 (2)	5 (3)	50 (4)	500 (5)
Versuchsansätze Nr. (N)					
1 (5)	1,44	1,79	1,60	1,59	1,83
2 (14)	1,39	1,35	1,38	1,26	1,12
3 (22)	1,14	1,06	0,98	0,92	0,85
4 (29)	1,03	0,90	1,04	0,96	1,18
Mittelwerte aus Nr. (+ Standardabweichung)					
1 - 5	1,23 (+ 0,18)	1,26 (+ 0,34)	1,26 (+ 0,25)	1,20 (+ 0,27)	1,25 (+ 0,36)
Veränderung gegenüber Ausgangs- wert (0 ng/ml Fenoterol)		+ 2,4%	+ 2,4%	- 2,4%	+ 1,6%
+ Standardabweichung (%)		+ 13,5	+ 7,1	+ 4,3	+ 14,2
- Standardabweichung (%)		- 12,4	- 3,8	- 11,4	- 15,2
	(N = 5)				

Statistische Auswertung (N = 5, K = 5, getestet 1 - 5)

Friedmann: Chi-Quadrat: 2,08 (< 8,99 für P = 5%)

Tab. 27

P/O-Quotienten von 5 Versuchsansätzen bei Inkubation des Herzgewebes mit 2000 ng/ml Verapamil und anschließender Zugabe von Fenoterol zu den Mitochondrien in Beziehung zum entsprechenden Ausgangswert (0 ng/ml Fenoterol).

Würdigung der Meßdaten

Der P/O-Quotient als Parameter für das Verhältnis von ATP-Synthese und Sauerstoffverbrauch beträgt bei den vorliegenden Messungen durchschnittlich 1,3 für unbehandelte Mitochondrien. Für den respiratorischen Kontrollindex (RCI), der das Verhältnis der Atmungsgeschwindigkeiten in Gegenwart und nach Verbrauch von ADP zum Ausdruck bringt, ergab sich bei den Experimenten als Mittelwert 1,7.

Bei der Oxidation NADH-abhängiger Substrate wie der hier verwendeten Lösung aus Glutamat und Malat ergibt sich nach Angaben von DARGEL (5) ein theoretischer Wert von 2,0 für den P/O-Quotienten. Ebenfalls nach DARGEL schwankt der RCI mit Werten zwischen 3,5 und über 20 erheblich in Abhängigkeit von der Mitochondrienspezies, dem jeweils verwendeten Substrat und zahlreichen Randbedingungen wie Phosphatkonzentration, Anwesenheit von Magnesium und Kalium.

In der vorliegenden Arbeit wurden lediglich Veränderungen der beiden Parameter nach Zugabe unterschiedlicher Konzentrationen von Fenoterol und/oder Verapamil in Abhängigkeit vom jeweiligen Ausgangswert untersucht. Die Frage nach der Gültigkeit der vorliegenden absoluten Zahlenwerte ist daher nur insoweit von Bedeutung, als in den Experimenten eventuell bereits durch die Methodik der Präparation oder die Zusammensetzung der verwendeten Lösungen das Herzgewebe, beziehungsweise die Mitochondrien so schwer vorgeschädigt wurden, daß ihre Empfindlichkeit gegenüber den zu untersuchenden Einwirkungen im Vergleich zu der völlig intakter Mitochondrien verändert war. Eine Schädigung der Organellen ist jedoch mit großer Wahrscheinlichkeit auszuschließen: Zum einen wurden die Richtlinien einer schon lange bewährten Methodik durchgeführt, zum anderen wurden bei

völlig voneinander unabhängigen Präparationen und ohnehin ständig neu angesetzten Reaktionslösungen identische Ergebnisse erzielt (vgl. Ergebnisse von 3.1.1.1 und 3.2.1.5 - 3.2.1.7). Außerdem erbrachte erst der Einsatz höchster Konzentrationen von Fenoterol signifikante Auswirkungen auf den RCI. Wäre die Empfindlichkeit der Mitochondrien durch strukturelle oder andere Veränderungen erhöht gewesen, müßte bereits bei niedrigen Dosierungen ein entsprechender Effekt nachweisbar sein. Der umgekehrte Fall einer erniedrigten Empfindlichkeit ist zwar nicht auszuschließen, jedoch unwahrscheinlich. Weiter wäre bei einer mitochondrialen Vorschädigung eine Veränderung der Phosphorylierungseigenschaften wahrscheinlich. Auch dies ist jedoch nahezu auszuschließen, da sich die jeweils errechneten P/O-Quotienten im Mittel noch im Rahmen der in der Literatur aufgeführten Werte befinden. Zu berücksichtigen ist ferner, daß der aus der jeweils verwendeten Gewebemenge (durchschnittlich 1 Gramm) resultierende Proteingehalt der Mitochondriensuspension mit im Mittel 15 mg/ml im Vergleich zu Präparationen größerer Gewebemengen niedrig, und dadurch das Verhältnis von Substrat-, ADP-, und Mitochondrienkonzentration ungünstiger war. Sicherlich wurden dadurch die erzielten Meßergebnisse beeinflusst.

Es kann also davon ausgegangen werden, daß die vorliegenden Daten hinreichend aussagekräftig sind bezüglich der in Abschnitt 1.5 genannten Fragestellung. Der P/O-Quotient erwies sich allerdings im Vergleich zum respiratorischen Kontrollindex wegen seiner von der jeweiligen Versuchsbedingung unabhängigen Schwankungen als weniger empfindlicher Parameter. Bei der Auswertung zeigte das Verhalten des Quotienten daher in keinem Fall signifikante Unterschiede, jedoch sind im wesentlichen ähnliche Tendenzen wie bei den Wirkungen auf den Atmungskontrollindex erkennbar (s. 3.1.2 und 3.2.2). Im folgenden wird daher ausschließlich auf das Verhalten des RCI

eingegangen.

Wirkung von Fenoterol

In der von WEIDINGER et al. (50,56) und WIEST et al. (58) bei üblicher klinischer Dosierung angenommenen Transferrat-Konzentration von 5 ng Fenoterol pro ml Medium (s. auch S. 9) wie auch in den Bereichen 0,5 ng/ml und 50 ng/ml Fenoterol war nach Inkubation isolierter Mitochondrien kein Effekt auf die oxidative Phosphorylierung nachweisbar (s. 3.1.1.1). Da Fenoterol nach Angaben von SAS et al. (36) sehr schnell - die Halbwertszeit von frei verfügbarem Fenoterol beträgt ca. 1 Stunde (s. S. 9) - metabolisiert wird, und der Konjugatanteil hoch ist, kann man erwarten, daß die Konzentration von aktivem Fenoterol im mütterlichen Serum geringer ist als oben angegeben. Untersuchungen über placentare Transport- und Metabolisierungsmechanismen von Fenoterol durch RACHOR et al. (31) haben ergeben, daß das Tokolytikum wahrscheinlich in unspezifischer Weise und ohne dabei metabolisiert zu werden diaplacentar in nur eingeschränktem Maße transportiert wird. Auch NOTMAN et al. (27), die Myokardgewebe bei Feten und Jungtieren von Ratten nach Fenoterolbehandlung untersuchten, konnten dies bestätigen. So kann davon ausgegangen werden, daß ebenso die fetale Konzentration, die nach WEIDINGER et al. (56) im Herzen 0,6 ng/ml beträgt, noch geringer ist. Auch die Inkubation des Herzgewebes direkt mit Fenoterol ergab im Konzentrationsbereich von 0,5 ng/ml bis 50 ng/ml keinen Anhalt für negative Auswirkungen auf den RCI: Zum einen beeinflusste die vorherige Inkubation des Herzgewebes mit Fenoterol das Verhalten des RCI unter Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien nicht wesentlich (siehe 3.2.1.1 - 3.2.1.3), wie der Vergleich mit dem entsprechenden Ergebnis nach Inkubation der Mitochondrien nicht vorbehandelten Herzgewebes (s. 3.1.1.2) mit Verapamil zeigt. Eine Abweichung ergibt sich lediglich nach Vorbe-

handlung des Herzgewebes mit 0,5 ng/ml Fenoterol, wobei hier der RCI nach Zugabe von 2000 ng/ml Verapamil zu den Mitochondrien um 7,9% in signifikanter Weise ansteigt (s. 3.2.1.1). Abgesehen davon zeigt sich auch kein signifikant anderes Verhalten des RCI bei einem Vergleich mit den Ergebnissen nach Inkubation der Mitochondrien mit Fenoterol und Verapamil (s. 3.1.1.3 - 3.1.1.5). Zum anderen ergibt eine Gegenüberstellung der durchschnittlichen RCI-Werte für unbehandelte Mitochondrien (s. 3.1.1.1, 0 ng/ml Fenoterol) und der Werte nach Inkubation des Herzgewebes mit 0,5 ng, 5 ng, beziehungsweise 50 ng/ml Fenoterol (s. 3.2.1.1. - 3.2.1.3, 0 ng Verapamil) und 20 ng, 200 ng, beziehungsweise 2000 ng/ml Verapamil (s. 3.2.1.5 - 3.2.1.7, 0 ng Fenoterol) ebenfalls keine signifikanten Unterschiede. Nach den vorliegenden Erkenntnissen kann also angenommen werden, daß bei üblicher therapeutischer Anwendung von Fenoterol die mitochondriale oxidative Phosphorylierung nicht beeinträchtigt ist - weder nach direkter Zugabe des Tokolyticums zu den Mitochondrien, noch nach vorheriger Inkubation des Herzgewebes.

Erst bei der wenigstens hundertfach erhöhten Fenoterolkonzentration von 500 ng/ml konnte nach Inkubation der Mitochondrien eine Verringerung des Koppelungsgrades festgestellt werden: Es ergab sich hier nach Inkubation isolierter Mitochondrien mit - 16,9% eine signifikante Verschlechterung gegenüber dem Atmungskontrollkoeffizienten unbehandelter Mitochondrien (siehe 3.1.1.1). Dies ist nach DARGEL (5) mit einer Beeinträchtigung der strukturellen Intaktheit der Mitochondrien verbunden. Man kann annehmen, daß es sich dabei angesichts der hohen Konzentration um einen toxischen Effekt handelt, durch den die mitochondriale Struktur geschädigt wird. Gegenüber dem RCI der Mitochondrien unbehandelten Herzgewebes konnte auch

bei mit 500 ng/ml Fenoterol inkubiertem Myokard keine Veränderung im Verhalten der mitochondrialen Atmung festgestellt werden: Auch hier ergibt eine Gegenüberstellung des durchschnittlichen RCI-Wertes für unbehandelte Mitochondrien (s. 3.1.1.1, 0 ng/ml Fenoterol) und der Werte nach Inkubation des Herzgewebes mit 500 ng/ml Fenoterol (s. 3.2.1.4, 0 ng/ml Verapamil) und 20 ng, 200 ng, beziehungsweise 2000 ng/ml Verapamil (s. 3.2.1.5-3.2.1.7, 0 ng/ml Fenoterol) keine signifikanten Unterschiede. Wie ein Vergleich mit dem entsprechenden Ergebnis nach Inkubation nicht vorbehandelten Herzgewebes mit Verapamil (s. 3.1.1.2) zeigt, beeinflusst die vorherige Inkubation des Herzgewebes mit 500 ng/ml Fenoterol das Verhalten des RCI unter Zugabe von Verapamil zu den Mitochondrien ebenso nicht wesentlich (s. 3.2.1.4). Auch bei einem Vergleich mit den Ergebnissen nach Inkubation der Mitochondrien mit Fenoterol und Verapamil (s. 3.1.1.6) zeigt sich kein signifikant anderes Verhalten des RCI. Demnach beruht die bei 500 ng/ml Fenoterol nach Zugabe zu den isolierten Mitochondrien objektifizierbare Verschlechterung des Koppelungsgrades keinesfalls auf einer durch die Ansammlung von Calcium, sowie weiterer, bereits auf Seite 12ferwähnter Mechanismen bedingten mitochondrialen Schädigung durch die Einwirkung auf die Betarezeptoren, wie sie von FLECKENSTEIN et al. (8,9) beschrieben wurden. Diese hätte insbesondere bei Inkubation des Herzgewebes nachweisbar sein müssen, da die vermuteten Mechanismen nach HARPER et al. (11) und SOMOGYI et al. (38) über die Vermittlung des Adenylatcyclase-cAMP-Systems ablaufen (s. S. 6) und somit nur an vollständig erhaltenen Muskelzellen und nicht an isolierten Mitochondrien Auswirkungen nachweisbar sein müßten. Offenbar bewirken aber die auf Seite 11f dargestellten durch die Tokolyse bedingten morphologisch faßbaren zellulären und mitochondrialen Veränderungen, wie sie unter anderem von BLOOM et al. (3),

FLECKENSTEIN et al. (8,9), HOFMANN et al. (15), MATYSIAK et al. (23) und RONA et al. (33) beschrieben wurden, zunächst keine Störung des Phosphorylierungsvermögens. Zwar werden nach RICHTER et al. (32), SALING et al. (35) und anderen auf Seite 10f angeführten Autoren einige Herz-, Kreislauf-, und Stoffwechselfparameter des mütterlichen und fetalen Organismus beeinflusst, für eine myokardiale Zellschädigung im Sinne einer Einschränkung der mitochondrialen Funktion ergab sich jedoch kein Anhalt. Bestätigt wird dies durch die auf Seite 13f geschilderten klinischen Untersuchungen von HAUSEN et al. (12), HILTMANN et al. (14), HOFSTETTER et al. (16), MEINEN et al. (25,26), ODDOY et al. (28), SCHUHMANN et al. (37), SPELGER et al. (39), STEYER et al. (40), STIX et al. (41) und WELLSTEIN et al. (57), in denen Myokardschädigungen nach Tokolyse mit Fenoterol nicht nachgewiesen werden konnten. Diese wären insbesondere bei einer Einschränkung der Phosphorylierungseigenschaften zu erwarten, da nach DARGEL (5), HARPER et al. (11) und VARY et al (47) aufgrund der zentralen Bedeutung der Mitochondrien im Energiestoffwechsel des Organismus - wie auch auf Seite 16f dargestellt - eine Störung der ATP-Synthese eine Blockade wesentlicher Stoffwechselvorgänge bewirkt.

Wirkungen von Verapamil

Verapamil, das im Kontrollversuch (s. 3.1.1.2) keinen Einfluß auf den RCI isolierter Mitochondrien zeigte, wies in Kombination mit Fenoterol keinen protektiven Effekt im Sinne einer Verbesserung des RCI auf (s. 3.1.1.3-3.1.1.6) - vielmehr zeigte sich bei einer Konzentration von 500 ng/ml Fenoterol nach Verapamil-Zugabe mit durchschnittlich - 8% die Tendenz einer weiteren Verschlechterung. Die bei einer Konzentration von 500 ng/ml Fenoterol oben beschriebene toxische Wirkung wurde durch Verapamil-Zugabe also noch weiter zusätzlich verstärkt - ein Effekt, der angesichts der

Vorschädigung der Mitochondrien durch Fenoterol durchaus verständlich ist. Bei allen anderen Fenoterol-Konzentrationen waren keinerlei Veränderungen der Phosphorylierungseigenschaften feststellbar, und demnach blieb auch die Zugabe von Verapamil ohne erkennbare Wirkung. In den klinischen Studien (s. S. 14f) von HOFSTETTER et al. (17), STRIGL et al. (42) und TROLPE et al. (46) konnte ebenfalls kein Nachweis eines kardioprotektiven Effekts nach Zugabe von Verapamil erbracht werden. Dementsprechend ergab sich bei den Experimenten auch nach vorheriger Inkubation des Herzgewebes mit Verapamil (s. 3.2.1.5 - 3.2.1.7) bei Zugabe von 500 ng/ml Fenoterol zu den danach isolierten Mitochondrien gegenüber 0 ng/ml analog dem in 3.1.1.1 dargestellten Ergebnis in signifikanter Weise eine Verschlechterung des RCI: Bei 20 ng/ml Verapamil mit - 27,2%, bei 200 ng/ml mit - 19,7% und bei 2000 ng/ml Verapamil mit - 19,1%. Analog den geschilderten Wirkungen von Fenoterol allein zeigten sich in den übrigen Fenoterol-Konzentrationen keine negativen Auswirkungen.

Durch einmalige Inkubation des Herzgewebes, beziehungsweise der Mitochondrien ist eine Beeinträchtigung der oxidativen Phosphorylierung bei therapeutischer Anwendung von Fenoterol nicht gegeben. Nicht auszuschließen sind jedoch etwaige nach Langzeittokolyse auftretende mitochondriale Schädigungen am Myokard, da durchaus vorstellbar ist, daß die von einigen oben erwähnten Autoren beschriebenen morphologischen Veränderungen bei langdauernder Einwirkung von Fenoterol zu einem Darniederliegen der mitochondrialen Funktionen und damit zu einem irreversiblen Zellschaden führen können.

Der Einsatz von Betamimetica in der Geburtshilfe zur Tokolyse ist wegen deren systemischer Wirkungen mit einem weiten Spektrum an Nebenwirkungen bei Mutter und Kind verbunden. So wird schon länger unter anderem eine kardiotoxische Wirkung derartiger Tokolytika diskutiert, zumal sich nach entsprechender Behandlung morphologische Veränderungen an Herzmuskelzellen und Mitochondrien nachweisen ließen.

Die vorliegende Arbeit schließt sich an diese Überlegungen an und überprüft, ob das Tokolyticum Fenoterol (Partusisten^R) die mitochondriale oxidative Phosphorylierung beeinflusst. Da sich die zusätzliche Gabe eines Calcium-Antagonisten, zum Beispiel Verapamil (Isoptin^R) zur Prävention einer eventuellen Herzmuskelschädigung aufgrund der vermuteten Wirkungen von Fenoterol anbietet und auch während einer Tokolyse in der Klinik therapeutisch durchgeführt wird, dies jedoch ebenfalls in der angenommenen Wirkung nicht unumstritten ist, wird zusätzlich untersucht, ob Verapamil nach Gabe von Fenoterol einen Effekt auf die oxidative Phosphorylierung hat.

Dementsprechend wurde das Myokard unbehandelter Ratten, beziehungsweise die davon isolierten Mitochondrien mit verschiedenen Fenoterol- und/oder Verapamil-Konzentrationen inkubiert und mit einer Sauerstoffelektrode nach DELIEU et al. (6) über einen daran angeschlossenen Schreiber die mitochondriale Atmung nach Zugabe von Substrat und ADP aufgezeichnet. Als empfindlicher Parameter für die strukturelle Intaktheit und den Koppelungsgrad der Mitochondrien gilt dabei das Verhältnis ihrer Atmungsgeschwindigkeiten vor und nach Zugabe von ADP, der sogenannte Atmungskontrollkoeffizient. Dieser Index, sowie der P/O-Quotient, der das Verhältnis von

Phosphatangebot und Sauerstoffverbrauch ausdrückt, wurde aus dem Kurvenverlauf errechnet und die den verschiedenen Konzentrationsbereichen entsprechenden Daten einander gegenübergestellt.

Die Auswertung der nahezu 350 einzelnen Atmungskurven ergab dabei, daß Fenoterol weder auf das Herzgewebe selbst, noch auf die isolierten Mitochondrien in den bei Mutter und Foet nach üblicher klinischer Dosierung auftretenden Konzentrationen einen Effekt im Sinne einer Störung der Phosphorylierungseigenschaften hat. Erst bei der mindestens hundertfachen Fenoterolkonzentration wurde nach Inkubation isolierter Mitochondrien der Koppelungsgrad verschlechtert. Verapamil zeigte in diesem Konzentrationsbereich von Fenoterol zusätzlich einen toxischen Effekt - im übrigen konnte jedoch keine weitere Wirkung des Calciumantagonisten festgestellt werden.

- 1 AHLQUIST R.P.
Study of adrenotropic receptors
Am.J.Physiol. 153 (1948), 586 - 600
- 2 Firma BACHOFER
Bedienungsanleitung für Sauerstoffmeßgerät nach
Druckschrift Nr. 409
Reutlingen
- 3 BLOOM S., CANCELLA P.A.
Myocytolysis and mitochondrial calcification in rat
myocardium after low doses of Isoproterenol
Am.J.Path. 54 (1969), 373 - 380
- 4 CHANCE B., WILLIAMS G.R.
Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation
(part I - V)
J.Biol.Chem. 217 (1955), 383 - 451
- 5 DARGEL R.
Mitochondrialer Elektronentransport und oxidative
Phosphorylierung
G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1981
- 6 DELIEU T., WALKER A.D.
Measurement of photosynthetic oxygen evolution
New. Phyt. 71 (1972), 201 - 225
- 7 FEGERL H., NARIK G.
Die Beeinflussung der Wehentätigkeit durch das
sympathische und parasympathische Nervensystem
Geburtsh. u. Frauenheilk. 11 (1951), 822 - 834

- 8 FLECKENSTEIN A., JANKE J., DÖRING H.J., LEDER O.
Myocardial fiber necrosis due to intracellular Ca^{++} -
overload - A new principle in cardiac pathophysiology
In: Myocardial biology. Recent advances in studies
on cardiac structure and metabolism
Vol. 4 (1974), 563 - 579

- 9 FLECKENSTEIN A., JANKE J., FLECKENSTEIN-GRÜN G.,
Kardiotoxische Wirkungen betaadrenerger Tokolytica -
Kardioprotektion durch Ca^{++} - Antagonisten
In: HILLEMANN H.-G. et al. (13)
Kardiale Probleme bei der Tokolyse
1978, 54 - 67

- 10 HARBON S., DO KHAC L., VESIN M.F.
Cyclic AMP binding to intracellular receptor
proteins in rat myometrium. Effect of epi-
nephrine and prostaglandin E_1 .
Mol. Cell. Endocrinol. 6 (1976), 17 - 34

- 11 HARPER H.A., LÖFFLER G., PETRIDES P.E., WEISS L.
Physiologische Chemie
Springer Verlag, Berlin, 1979

- 12 HAUSEN W., LOCH E.G., RAU G.
Kreislaufuntersuchungen unter Partusisten mit be-
sonderer Berücksichtigung der Impendanzkardiographie
in: JUNG H. et al. (18)
Fenoterol bei der Behandlung in der Geburts-
hilfe und Perinatalogie
1978, 114 - 119

- 13 HILLEMANN H.-G., TROLP R.
Kardiale Probleme bei der Tokolyse
F. Enke Verlag, Stuttgart, 1978

- 14 HILTMANN W.D., WIEST W., GRUMBRECHT C., WEIDINGER H.,
POHL R., RUFFMANN R.
Das Verhalten des maternalen kardiovaskulären Systems
unter Tokolyse
in: JUNG H. et al. (18)
Fenoterol bei der Behandlung in der Geburtshilfe
und Perinatologie
1978, 146 - 151
- 15 HOFMANN W., SCHLEICH A., SCHRÖETER D., WEIDINGER H.,
WIEST W.
Der Einfluß von Betasympathomimetica und sog. Calcium-
antagonistischer Hemmstoffe auf den menschlichen
Herzmuskel in vitro
Virchows Arch. A Path. Anat. and Histol. 373 (1977), 85 - 95
- 16 HOFSTETTER R., MAYR A., v. BERNUTH G.
Ventricular function in newborn infants
determined by echocardiography with and
without Fenoterol therapy of the mother
during pregnancy
in: JUNG H. et al. (19)
Betamimetic drugs in obstetrics and perinatology
1982, 190 - 194
- 17 HOFSTETTER R., SCHMIDT H.P., KREBS B., LANG D.,
v. BERNUTH G.
Kardiale Wirkung von Fenoterol allein oder in
Kombination mit Verapamil
Z. Geburtsh. u. Perinat. 183 (1979), 335 - 338
- 18 JUNG H., FRIEDRICH E.
Fenoterol (Partusisten) bei der Behandlung
in der Geburtshilfe und Perinatologie
Thieme Verlag, Stuttgart, 1978

- 19 JUNG H., LAMBERTI G.
Betamimetic drugs in obstetrics and perinatology
3rd symposium on betamimetic drugs , Aachen
Thieme Verlag, Stuttgart, 1982
- 20 KLÖCK F.K.
The action of sympathomimetic drugs on uterine
muscle
in: WEIDINGER H. (51)
Labour inhibition, Betamimetic drugs
in obstetrics
1977, 27 - 39
- 21 KOVACS L., FALKAY G.
The relation of adrenergic activation to the activity
of the prostaglandin synthetase in the pregnant
human myometrium
in: JUNG H. et al. (19)
Betamimetic drugs in obstetrics and perinatology
1982, 7 - 13
- 22 LANDS A.M., LUDWEN F.P., BUZZO H.J.
Differentiation of receptors responsive to iso-
proterenol
Life Sci. 6 (1967), 2241 - 2249
- 23 MATYSIAK W.J., KRYSTYNA M.C.
Histochemical investigations of the cardiac muscle
in the rat following administration of Partusisten.
Cytophysiological features of the stimulation of
betaadrenergic receptors
Gegenbaurs morph. Jahrb. , Leipzig , 128 (1982), 741 - 752
- 24 MARTIUS G. (Ed.)
Lehrbuch der Geburtshilfe
Kap. 8: Regelwidrige Schwangerschaftsdauer
Thieme Verlag, Stuttgart, 1977, 214f

- 25 MEINEN K., AL-ISSA H., SCHMIDT E.W., BREINL H.
Zur kardialen Situation von Neugeborenen nach
Langzeittokolyse mit Fenoterol
Geburtsh. u. Frauenheilk. 41 (1981), 103 - 106
- 26 MEINEN K., BREINL H.
Serum myoglobin and creatine kinase B during
long-term tocolysis with Fenoterol, using
radio - immunessays
In: JUNG H. et al. (19)
Betamimetic drugs in obstetrics and
perinatology
1982, 110 - 115
- 27 NOTMAN J., ROMINGER K.L., NIGGESCHULZE A.,
ARNDTS D.
Experimental investigation of possible cardiotoxic
effects on the offspring of rats treated with high
doses of Fenoterol
J. Perinat. Med. 5 (1977), 206 - 213
- 28 ODDOY A., JOSCHKO K., FRENZKE G., GOLDMANN M.
Fetale Myokardschädigung durch Betamimetica ?
Zbl. Gynaekol. 103 (1981), 1429 - 1434
- 29 PRAKTIKUMS-ANLEITUNG
zum Praktikum der physiologischen Chemie für Mediziner
und Zahnmediziner, Teil II
Institut für Physikalische Chemie, physikalische Biochemie und
Zellbiologie der Universität München
Sommersemester 1980 , Abschnitt 7
- 30 PSYCHREMBEL W.
Klinisches Wörterbuch
Walter de Gruyter Verlag, Berlin, 1982, 383

- 31 RACHOR D., LEICHTWEISS H.-P
Transport of ^3H -fenoterol, ^{14}C -antipyrine and
 ^{14}C -L-Glucose through the cotyledons of the delivered
human placenta artificially perfused on both sides
in: JUNG H. et al. (19)
Betamimetic drugs in obstetrics and perinatology
1982, 18 - 23
- 32 RICHTER R., WIEST W.
Tokolyse mit Berücksichtigung der Nebenwirkungen
Gynäkologe 11 (1978), 29 - 38
- 33 RONA G., CHAPPEL C.I., BALAZS T., GAUDRY R.
An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations
produced by Isoproterenol in the rat
Arch. Path. 67 (1959), 443 - 455
- 34 SACHS L.
Angewandte Statistik
Springer Verlag, Berlin, 1974, 422 - 429
- 35 SALING E.
Möglichkeiten und Grenzen der Tokolyse
Arch. of Gyn. 228 (1979), 67 - 78
- 36 SAS M., KOVACS L.
Systemic pharmacology of adrenergic activators
and inhibitors: Effects on genital system
in: SZEKERES L. (Ed.)
Adrenergic activators and inhibitors
part II, 214 - 242
Handb. Exp. Pharm. 54/II
Springer Verlag, 1981

- 37 SCHUHMANN R., HALBERSTADT E., GERNER R., RAAB R.,
 Änderung von Kreislaufparametern unter tokolytischer
 Behandlung
 in: JUNG H. et al. (18)
 Fenoterol (Partusisten) bei der Behandlung in
 der Geburtshilfe und Perinatologie
 1978, 141 - 145
- 38 SOMOGYI J., ZSOLNAI B., VER A., BALOGH J.,
 LINDNER F., WIEST W.
 Cellular mechanism of action of betaadrenergic
 stimulants on the uterus. The role of calcium-transport
 in: JUNG H. et al. (19)
 Betamimetic drugs in obstetrics
 and perinatology
 1982, 2 - 6
- 39 SPELGER G., WIEST W., SCHLICKE H., KACHEL W.,
 PULS F.
 Kardiale Parameter beim Neugeborenen nach Tokolyse
 Klin. Pädiat. 192 (1980), 319 - 324
- 40 STEYER M., RINK K., SCHLESING H., MORGENSTERN J.,
 HEIDENREICH J.
 Serumkreatinkinase MB während Fenoterol-Tokolyse
 Z. Geburtsh. u. Perinat. 183 (1979), 339 - 392
- 41 STIX J., DRESSLER F., SALING E.
 Untersuchungen der kardialen Spätfolgen
 bei Kindern nach Langzeittokolyse mit Fenoterol
 und Verapamil
 Z. Geburtsh. u. Frauenheilk. 42 (1982), 857 - 861

- 42 STRIGL R., PFEIFFER U., ERHARDT W., BLÜMEL G.
Bietet der Calcium-Antagonist Verapamil bei der Tokolyse mit
Betasympathomimetica den erwarteten Schutz vor Myokardschäden ?
Geburtsh. u. Frauenheilk. 40 (1980), 500 - 507
- 43 TRITTHART H.A.
Pharmacology and electrophysiology of calcium ion
antagonists
Clin. and Invest. Med. , Vol. 3, Nos 1/2 , 1980, 1 - 7
- 44 TROLP R., HAAG K., HILLEMANN H.G.
Quantitative assesment of the results of tokolytic
therapy at the university gynaecological hospital,
Freiburg, from 1976 to 1978
in: JUNG H. et al. (19)
Betamimetic drugs in obstetrics and perinatology
1982, 48 - 56
- 45 TROLP R., HILLEMANN H.G., IRMER M., BÖHM N.,
HAASTERT H.-P.
Kasuistischer Beitrag zur möglichen Herzschiidigung
nach Tokolyse
in: SCHMIDT E., DUDENHAUSEN J.W., SALING E. (Ed.)
Perinat. Med., Bnd. VII, 62f
Thieme Verlag , Stuttgart, 1978
- 46 TROLP R., IRMER M., BERNIUS U., POHL C., HILLEMANN H.G.
Comparative investigations into the results of tocolysis with
Fenoterol, combination therapy with Fenoterol/Verapamil and
combination therapy with Fenoterol/Metoprolol
in: JUNG H. et al. (19)
Betamimetic drugs in obstetrics and perinatology
1982, 239 - 245

- 47 VARY T.C., REIBEL D.K., NEELY J.R.
Control of energy metabolism of heart muscle
Ann. Rev. Physiol. 43 (1981), 419 - 430
- 48 VOGTMANN CH., KÖGLER B., RUCKHÄBERLE K.-E., RICHTER TH.
Myokardiale Kontraktilität Neugeborener nach Tokolyse
mit Betasympathomimetica
Z. Geburtsh. u. Perinat. 186 (1982), 136 - 140
- 49 WEIDINGER H., WIEST W.
Tokolyse - Fortschritt mit möglichen Gefahren
in: HILLEMANN H.-G. (13)
Kardiale Probleme bei der Tokolyse
1978, 9 - 16
- 50 WEIDINGER H., HOFMANN W.-D., WIEST W., SCHLEICH A.,
SCHRÖTER D.
Histologische Befunde nach Inkubation von foetalen menschlichen
Herzen mit Partusisten
in : HILLEMANN H.-G. (13)
Kardiale Probleme bei der Tokolyse
1978, 74 - 77
- 51 WEIDINGER H.
Labour inhibition, Betamimetic drugs in obstetrics
G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1977
- 52 WEIDINGER H., WIEST W.
A: Die Behandlung des Spätabortes und der drohenden Frühgeburt
mit Th. 1165 a) in Kombination mit Isoptin
Z. Geburtsh. Perinat. 177 (1973), 233 - 237
- 53 WEIDINGER H., WIEST W.
B: Die Auswirkungen langdauernder Wehenhemmung mit Th 1165a)
und Isoptin auf Herz-, Kreislauf-, Organ-, und Stoffwechsel-
parameter der Mutter
Z. Geburtsh. Perinat. 177 (1973), 366 - 372

- 54 WEIDINGER H., WIEST W., DIETZE S., WITZEL K.
C: Wirkungen der Wehenhemmung mit Th 1165a) und Isoptin auf Foet,
das Neugeborene und den Säugling
Z. Geburtsh. Perinat. 177 (1973), 366 - 372
- 55 WEIDINGER H., WIEST W., SCHLEICH A., HOFMANN W.,
SCHRÖTER D.
The effects of betamimetic drugs used for tocolysis on the
fetal myocardium
J. Perinat. Med. 4 (1976) , 280 - 285
- 56 WEIDINGER H., WIEST W., ZSOLNAI B., SOMOGYI J.
Diaplacentare Passage von Partusisten
in: SCHMIDT E., DUDENHAUSEN J W. , SALING E. (Ed.)
Perinat. Med., Bnd. VI, 207f
Thieme Verlag Stuttgart, 1978
- 57 WELLSTEIN A., BREINL H., MEINEN K., SCHMIDT E.W.
Zur Frage der Myokardschädigung durch Fenoterol
Z. Geburts. u. Perinat. 181 (1977), 402 - 406
- 58 WIEST W., WEIDINGER H., ZSOLNAI B., SOMOGYI J.,
ROMINGER K.L.
Diaplacental transfer of Partusisten in humans
in : WEIDINGER H. (51)
Labour inhibition, Betamimetic drugs in obstetrics
1971, 47 - 51
- 59 WOLFF F., BOLTE A., BERG R.
Ist durch Acetylsalicylsäure eine Verminderung der Beta-
mimetica-Dosis bei der Tokolyse möglich ?
Geburtsh. u. Frauenheilk. 41 (1981) , 293 - 296

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Hepp sowie Herrn Prof. Dr. K. Richter für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes in der Frauenklinik.

Herrn PD. Dr. W. Eiermann danke ich für die Anregungen zu dieser Arbeit und die großzügige Förderung.

Ich danke auch Herrn Prof. Dr. v.Jagow und Mitarbeitern vom Institut für Physiologische Chemie, Physikalische Biochemie und Zellbiologie der Universität München für die hilfreiche Anleitung.

LEBENS LAUF

Am 15. Mai 1956 wurde ich als Sohn des Stud. Dir. Dr. Karl Reiner und seiner Ehefrau Rosa, geb. Dreitinger in München geboren.

1962 trat ich in die Grundschule an der südlichen Auffahrtsallee in München ein, ab 1966 besuchte ich das humanistische Ludwigs-Gymnasium in München. 1975 schloß ich die Schulausbildung mit dem Abitur ab.

Am 1.9.1975 begann ich mit einer Tätigkeit als Krankenpfleger an der urologischen Abteilung des Krankenhauses der Barmherzigen Brüder in München. Vom 1.10.1977 - 31.10.1978 nahm ich an der Chirurgischen Abteilung des Klinikums Großhadern in München eine Stelle als Pfleger in der zentralen Operationsabteilung an.

Ab November 1978 studierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München Humanmedizin. Am 15.9.1980 bestand ich die ärztliche Vorprüfung, am 27.8.1981 den ersten Abschnitt, am 12.9.1983 den zweiten und am 15.10.1984 den dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung. Die Approbation als Arzt wurde mir am 19.10.1984 erteilt.

Seit November 1980 bin ich mit meiner Frau Christine, geb. Stegmair, verheiratet; unsere Tochter Eva-Maria wurde am 2.2.1984 geboren.



